

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI



Dejeneratif Disk Hastalığının Oluşumunda

MyD88 Bağımlı Yolağın Rolü.

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. MEHMET YİĞİT AKGÜN

TEZ DANIŞMANI:

PROF. DR. MEHMET MURAT HANCI

İSTANBUL-2020

**“Bu alışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
desteklenmiştir.”**

Proje numarası: 25405

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bir öğretmen gibi tüm bilgi ve deneyimini aktaran, fakültemizin zor zamanlarında bile daha iyi şartlarda eğitim alabilmemiz için ellerinden gelen tüm çabayı gösteren sayın hocalarıma,

Tüm eğitimim boyunca bana aile olan tüm asistan arkadaşlarıma, teknisyenlerimize, hemşirelerimiz ve çalışanlarımıza,

Tezimin oluşmasını sağlayan Prof. Dr. Murat Hancı 'ya ve Doç. Dr. Sibel Akyol'a

En büyük destekçim olan eşim Dr. Elife Akgün'e ve canım oğlum Yiğit Altay Akgün'e sonsuz teşekkürler.

MEHMET YIğİT AKGÜN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
2. TARİHÇE	1
3. İNTERVERTEBRAL DİSK ANATOMİSİ	2
3.1 Nükleus Pulposus	2
3.2 Anulus Fibrosus	3
3.3 İntervertebral End Plateler	4
4. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU	5
4.1 Epidemiyoloji	5
4.2 Etyoloji	5
4.3 Patogenez	6

5. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE AĞRI	11
6. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE CİNSİYET	13
7. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE MRG BULGULARI	14
8. TOLL BENZERİ RESEPTÖRLER VE ENFLAMASYON	18
8.1 TLR4/MyD88 Bağımlı Yol	21
9. AMAÇ	25
10. GEREÇ VE YÖNTEM	26
10.1 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELİSA) Yöntemi	27
10.1.1 ELİSA Komponentleri	28
10.1.2 Direkt ELİSA	28
10.1.3 İndirekt ELİSA	28
10.1.4 Nonkompetitif ELİSA	29
10.1.5 Kompetitif ELİSA	29
10.1.6 ELİSA protokolüne göre standartların hazırlanışı	30
10.1.7 Prosedür	31
10.1.8 Standartların Hazırlanması	31
10.1.9 Yıkama Solüsyonu	31
11. İSTATİKSEL ANALİZ	33
12. BULGULAR	34
13. TARTIŞMA	50

14. SONUÇ	59
15. KAYNAKLAR	60
16. EKLER	73
16.1 Ek-1: Etik Kurul Onayı.....	73



KISALTMALAR

İVD	: İntervertebral disk
DDH	: Dejeneratif disk hastalığı
NP	: Nükleus pulposus
AF	: Anulus fibrosus
ECM	: Ekstrasellüler matriks
GAG	: Glikozaminoglikan
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MMP	: Matriks metalloproteinaz
IL	: İnterloklin
ADAMTS	: Trombospondin motifli disintegrin ve metalloproteinaz
TNF	: Tümör nekroz faktör
NGF	: Sinir büyüme faktörü
BDNF	: Beyin türevi nörotrofik faktör
NH	: Notokordal hücre
ONPH	: Olgun nükleus pulposus hücresi
HIF	: Hipoksi ile indüklenebilir faktör
TIMP	: Metallopeptidaz inhibitör
PG	: Prostaglandin
NO	: Nitrik oksit
FSE	: Hızlı spin eko
T1A	: T1 ağırlıklı
T2A	: T2 ağırlıklı
MD	: Modic dejenerasyon

TLR	: Toll benzeri reseptör
MyD88	: Miyeloid diferansiye primer cevap proteini
LPS	: Lipopolisakkarit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
DAMP	: Zarar görmüş model molekül
PRR	: Model tanıma proteini
PAMP	: Patojenle ilişkili moleküler patern
ER	: Endoplazmik retikulum
LRR	: Lösin bakımından zengin tekrar
TIR	: Toll / IL-1 reseptörü
IRF	: İnterferon düzenleyici faktör
MAP	: Mitojen ile etkileşen protein
TRIF	: Toll-IL-1R domain-containing adapter-inducing IFN-β
IRAK	: IL1 ilişkili kinaz
TAK	: TGF B aktive edici kinaz
IKK	: Multisubunit IκB kinaz
IκB	: NF-κB den ayrışan inhibitör protein
MEF	: Fare embriyonik fibroblast hücreleri
TAB	: TAK bağlayıcı protein
LDH	: Lomber disk hernisi
NSAİİ	: Non steroidal antiinflamatuvar ilaç
ELİSA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
CD4	: Human Cluster of differentiation 4
IKKα	: Human Inhibitor of KB kinase α
IκBα	: Human Inhibitory subunit of NF-κBα

- TICAM** : Toll-IL-1 reseptör-içeren adaptor molekül
HMGB : Hücre dışı yüksek mobilite grubu kutusu
MyD88i : MyD88 inhibitörü



TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

TABLO 1: Modic dejenerasyon tiplerine göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi.....	44
TABLO 2: NSAİİ kullanım durumlarına göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi.....	47
TABLO 3: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı durumuna göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi.....	48



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No :

ŞEKİL 1: İntervertebral Disk Anatomisi Şematize Edilmiş Şekilde.....	4
ŞEKİL 2: İntervertebral disk dejenerasyonun da dejeneratif çember kavramı.....	9
ŞEKİL 3: Matriks anabolizması ile katabolizması arasındaki denge.....	10
ŞEKİL 4: Dejenerasyonun şematik gösterimi ve karşılık gelen aksiyel T2A FSE MR disk görüntüleri.....	14
ŞEKİL 5: Aksiyel düzlemdeki potansiyel herni bölgelerinin şematik gösterimi.....	15
ŞEKİL 6: Sagittal T1A ve T2A MR görüntüleri ile farklı Modic değişikliklerinin gösterilmesi.....	16
ŞEKİL 7: Toll-benzeri reseptör bağımlı yol, şematize edilmiş.....	23
ŞEKİL 8a: NF-kB α ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	35
ŞEKİL 8b: TICAM2 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	36
ŞEKİL 9a: IRF3 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	37
ŞEKİL 9b: TICAM1 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	38
ŞEKİL 10a: IKK α ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	39
ŞEKİL 10b: MyD88 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	40
ŞEKİL 10c: NF-kB p65 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	41
ŞEKİL 10d: TLR4 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	42
ŞEKİL 10e: TRAF 6 ile tipler arası istatistikî ilişkinin gösterilmesi.....	43

ŞEKİL 11: MyD88 ile ilaç kullanımı arası istatistiki ilişkinin gösterilmesi.....46



ÖZET

Amaç: İntervertebral disk dejenerasyonu ve bel ağrısının ana sebeplerinden biridir. Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) sinyal yolunun, miyeloid diferansiye primer cevap proteini (MyD88) bağımlı veya bağımsız yollarda olması ve ayrıca nükleus pulposus hücrelerinde TLR4'ün aktivasyonu ile ilişkili sonuçları değerlendirilip belirlenmesidir. Böylelikle, MyD88'e bağlı TLR4 sinyal yolunun disk dejenerasyonunun altında yatan hedef yol olduğuna dair hipotezin desteklenmesi ve sebep olan moleküler mekanizmaları araştırmak için teorik bir temel oluşturulması sağlanmaya çalışılmaktadır. Ayrıca; modic tip değişikliklere ve ilaç kullanıp kullanmamaya göre de dejenerasyonda kullanılan bu yolak ve bu iki faktör arasındaki ilişki ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Yöntem: Çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Nöroşirurji Anabilim Dalı Polikliniğine bel ağrısı ve siyatalji şikayeti ile başvuran, lomber MRG ile değerlendirmenin akabinde dejenerasyon bulguları gösteren ve lomber disk hernisi (LDH) nedeniyle cerrahi tedavi endikasyonu mevcut olan 88 erişkin erkek hasta yazılı onam formu alınarak kliniğimizde opere edildi. Lomber dejeneratif disk hastalığının oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülen; CD4, IKKA, NF KBA ve TRAF 6 gibi adaptör proteinlerin belirgin rol oynadığı, MyD88'e bağlı Toll like reseptör 4 sinyal yolu değerlendirilmiş ve bu yolun Modic tip dejenerasyon derecesi ile ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

Bulgular: Modic dejenerasyon tiplerine göre; Varyansları homojen olan grupta; NF-kBa'nın 0.001 anlamlılık düzeyinde, IRF 3'ün 0.05 anlamlılık düzeyinde ve TICAM2'nin ise 0.01 anlamlılık düzeyinde en az iki grup arasında farklı olduğu gösterilmiştir. CD4 için ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (p=0.092). Varyansları homojen olmayan grupta ise; IKK α , MYD88, NF-kB p65, TLR4 ve TRAF6 değişkenleri için 0.001 anlamlılık düzeyinde, TICAM1 için 0.05 anlamlılık düzeyinde fark bulunmuştur. TBK1 için ise istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,502). , NSAİİ ilaç kullanıp/kullanmama durumlarına göre MyD 88 değişkeni için varyanslar farklı çıkmış ve p<0.05 anlamlılık düzeyinde istatistiksel analizde farklılık saptanmıştır. Örnekler bel ağrısı ve

eşlik eden radiküler ağrı olmak üzere iki ana grup altında değerlendirildiğinde ise tüm değişkenler için istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$)

Sonuç: Çalışmamız, daha önce literatürde gösterilmemiş veya tartışmalı bir şekilde bildirilmiş yorumları, literatürün aksine net şekilde ortaya koymaktadır. Özellikle ‘‘innate immün sistemin’’ disk dejenerasyonundaki rolünün ve bunun Modic dejenerasyon ile olan korelasyonunun anlaşılması, gelecekte hastaların yönetimine ve tedavi sürecine dair ciddi gelişmeler sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: İmmunoloji, Modic dejenerasyon, Toll benzeri reseptör, Bel ağrısı, MyD88 bağımlı yol, Dejeneratif disk hastalığı

İletişim: myigitakgun@gmail.com

ABSTRACT

Aim: One of the primary causes of low back pain is thought to be degeneration of the intervertebral disc (IVD). The aim of the present study was to investigate the role of the myeloid differentiation primary-response protein 88 (MyD88)-dependent Toll-like receptor 4 (TLR4) signal pathway in the mechanism of IVD degeneration. In particular, to determine the relationship between this pathway and modic degeneration which is one of the main findings of disc degeneration; it will be important in increasing theoretical knowledge and its use in the clinic. In this study, the relationship between this pathway and drug use was tried to be revealed.

Method: The study was carried out in Istanbul University Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty Department of Neurosurgery and Physiology. A total of 88 adult male patients who presented with low back pain and sciatalgia, showed signs of degeneration after lumbar MRI evaluation, and had indications for surgical treatment for lumbar disc hernia (LDH) were operated in our clinic. It is thought to contribute to the formation of lumbar degenerative disc disease; MyD88-induced Toll-like receptor 4 signaling pathway, in which adapter proteins such as CD4, IKKA, NF KBA and TRAF 6 play a prominent role, was evaluated and its relationship with the degree of Modic type degeneration was attempted.

Results: According to modic degeneration types; In the variance homogeneous group; It was shown that NF-kB α was different between at least two groups at 0.001 significance level, IRF 3 at 0.05 significance level and TICAM2 at 0.01 significance level. There was no significant difference between the groups for CD4 ($p = 0.092$). In the variance non-homogeneous group; IKK α , MYD88, NF-kB p65, TLR4 and TRAF6 were found to be significant at 0.001 significance level and TICAM1 at 0.05 significance level. There was no statistically significant difference for TBK1 ($p = 0.502$). According to the NSAID use / non-use status, the variances were different for MyD 88 and $p < 0.05$ was found to be statistically significant. When the samples were evaluated under two main groups as low back pain and concomitant radicular pain, no significant difference was found in the statistical analysis for all variables ($p > 0.05$).

Conclusion: Our study clearly demonstrates, unlike the literature, comments that have not previously been shown in the literature or have been controversially reported. In

particular, understanding the role of the innate immune system in disc degeneration and its correlation with Modic degeneration will provide significant improvements in the management and treatment of patients in the future.

**“This study was funded by Scientific Research Projects Coordination Unit
of Istanbul University Cerrahpasa”**

Project number: 27531

Keywords: Immunology, Modic degeneration, Toll-like receptor, Low back pain, MyD88 dependent pathway, Degenerative disc disease

Contact:myigitakgun@gmail.com

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

İntervertebral disk (İVD), omurganın biyomekaniğinde merkezi rol oynayan karmaşık bir kıkırdak yapısıdır. İVD doğal yapısını kaybettiğinde, dejenerasyona uğrayarak biyomekaniğinde değişiklikler görülmekte ve potansiyel bir ağrı kaynağı olduğu bilinmektedir (1). Asemptomatik İVD dejenerasyonu, yetişkin popülasyonda, patolojik bir durumdan ziyade yaşlanmaya sekonder oluşan bir durum olarak görülmektedir. Bununla birlikte, bazı İVD dejenerasyonu vakaları asemptomatik iken, diğerleri yaşamın erken yıllarında ciddi aksiyel bel ağrısı ile birlikte ortaya çıkabilmekte ve bu tip durumlarda patolojik olarak kabul edilebilmektedir (2).

Ağrılı İVD dejenerasyonundan kaynaklanan morbidite, toplum üzerinde önemli olumsuz etkiler oluşturmaktadır. İVD dejenerasyonunun karmaşık mekanizmaları hakkındaki bilgiler arttıkça, dejenere olan intervertebral diskin yapısını ve fonksiyonunu korumak ve hatta rejenerasyonu için yeni tedavi yaklaşımları oluşturmak mümkün olabilmektedir (3,4).

2. TARİHÇE

Omurga problemleri ile ilgili bilgiler eski Mısır, Yunan, Roma ve Araplara kadar uzanmaktadır. Hipokrat (MÖ 460-377) sakrumdan başlayan kalçada lokalize olan, uyluğa yayılan bir ağrıyı tanımlayan ilk hekimdir (5). Antik döneme ilişkin yazılara bakıldığında isim vermeden siyataljinin tanımlanmasına rağmen, bu terimi ilk kullananlardan biri Shakespeare'dir (6). Caelius Aurelianus 4. yüzyılda ilk defa siyataljinin tanımını yapmıştır. 1543'te Vesalius intervertebral diskin anatomisini tanımlamıştır. Kocherde 1806 yılında post-mortem olarak ilk travmatik disk rüptürünü yayınlamıştır.

İVD dejenerasyonunda oluşan patolojik değişiklikler ilk kez 1824 yılında Wenzel tarafından lomber diskde gösterilmiştir. 1852'de ise Valleix siyatik sinir seyri boyunca trigger noktaları tanımlamıştır. 1911 yılında, Goldtweight, kauda ekuina basısını, Middieton ve Teacher, kauda ekuina basısına neden olan santral disk hernisini açıklamışlardır. 1920'lerde spinal patoloji ve disk dejenerasyonlarına yönelik araştırmalar tekrar yoğunlaşmaya başlamıştır. Yaptığı araştırmalar ile vertebra ve disk patolojilerine en fazla katkı sağlayan Alman bilim adamı Christian Georg Schmorl(1861-1932) olmuştur. Vertebra ve diskin normal yapısını, yaşa bağlı gelişen değişiklikleri, anüler

yırtık tiplerini, vertikal ve posterior disk protrüzyonlarını sistemik bir şekilde tanımlamıştır. Literatürde, 1940'lerden sonra birçok yazar dejeneratif disk hastalığına (DDH) ait bulguları radyografik olarak tanımlamış, ancak semptomatik dejenere İVD'in oluşturduğu klinik tablo DDH olarak 1970'lerde literatüre girmeye başlamıştır. 1975'de, Hijikata, perkütan diskektomi, 1977'de, Caspar ve Yaşargil, mikrolomber diskektomi geliştirmişlerdir. Günümüzde ise sıklıkla mikrodiskektomi ve endikasyon dahilinde endoskopik diskektomi girişimleri uygulanmaktadır (7,8,9).

3. İNTERVERTEBRAL DİSK ANATOMİSİ

İVD insan vücudundaki en büyük avasküler yapıdır. İVD'ler, omurga stabilitesini sağlayan ve omur gövdelerini birleştiren esnek eklemlerdir. Rollerini, vücut aktivitesi sırasında omurgaya uygulanan aksiyel basınç kuvvetlerini emmek, yük iletimini kolaylaştırmak ve omurganın çok eksenli esnekliğini sağlamaktır. Genel olarak, İVD üç yapıdan oluşur: nükleus pulposus (NP), anulus fibrosus (AF) ve end plate'ler. NP, ekstraselüler matriks ve içine gömülü küçük yuvarlak hücreler içeren oldukça hidrate ve jelatinöz bir dokudur. NP çevre AF ile çevrelenmiştir. Her ne kadar hücre ve matriks biyolojisi NP'dan farklı ise de bu iki doku arasında açık bir demarkasyon hattı yoktur. Diskin inferior ve superior yüzleri kondrositik hücreler içeren hyalin kartilajdan oluşan end-plate ile vertebra korpusuna tutunur (10,11).

3.1 Nükleus Pulposus

İntervertebral diskin merkez bölgesindeki NP, diske hareket kabiliyetini ve kompressif yüklenme altında mekanik enerjiyi emme kabiliyetini vermektedir. Kondrosit benzeri hücre olarak da bilinen hücreleri içeren, oldukça hidrate ve jelatinöz bir dokudur. NP'un hücre dışı matriksi (ECM), negatif yüklü glikozaminoglikana (GAG) sahip olan proteoglikandan oldukça zengindir. NP'deki su molekülleri, hidrofilik glikozaminoglikana sıkıca bağlanmaktadır. Proteoglikanlar (en fazla agrekan), intervertebral diskin kuru ağırlığının % 50'sini oluşturmaktadır. Tip II kollajen ise, intervertebral diskin kuru ağırlığının % 25'ini oluşturan, NP hücre dışı matriksinin diğer önemli yapısal bileşenidir. Ayrıca, kollajen tip III, V, VI, IX ve XI da daha küçük miktarlarda bulunmaktadır. NP matriksi,

suyu bağlama ve onkotik basınç oluşturma kapasitesi ve adaptasyonu ile kuvvetli basınç yüklerine karşı direnç sağlamada en önemli yapılardan biridir (12).

Yuvarlak bir sitoplazmaya sahip kondrosit benzeri NP hücreleri, erişkindeki NP'un matriksinde yer almaktadır. Agrekan ve kollajen tip II dahil olmak üzere yeni matriks makromoleküllerini sentezleyerek matriksi koruma işlevini gerçekleştirmektedirler. Büyük, vakumlanmış "notokordal hücreler" NP içinde genç yaşta daha fazla olan ve yetişkin İVD'lerde seyrek olan bir diğer hücre popülasyonudur. Terminolojiye rağmen, hem NP hücrelerin hem de notokordal hücrelerin notokorddan oluştuğu düşünülmektedir. Bu notokordal hücreler, İVD'in gelişiminde rol oynuyor gibi görünmekle beraber, yetişkinlerde işlevleri ve İVD dejenerasyonunun gelişimindeki önemleri büyük ölçüde bilinmemektedir. NP'da, difüzyon yoluyla; oksijenlenme ve beslenme sağlanmakta, atık metabolizma ürünleride aynı şekilde difüzyon yoluyla uzaklaştırılmaktadır. NP, avasküler bir dokudur ve ayrıca innervasyondan da yoksundur. Bu özellikleri ile hyalin eklem kıkırdağına da benzemektedir (13,14).

3.2 Anulus Fibrosus

NP çepeçevre AF ile çevrelenmiştir. Fibröz halkalar şeklinde sıralanan lameller, ağırlıklı olarak tip 1 kollajen içermektedir. NP'nin aksine, AF'de yaklaşık% 66 oranında kollajen bulunmaktadır. Bu kollajen lifleri, ters yönde yönlendirilmiş bitişik lamellerle omurganın eksenine göre 60 derecelik bir açıyla gizli lameller içinde paralel olarak düzenlenmektedir. AF; kollajen tip 1 ve 3'ten zengin ve daha az miktarda tip 2 kollajen, proteoglikanlar ve elastin içeren 15-25 konsantrik lamel ile karakterize heterojen bir fibrokartilajenöz dokudur (15).

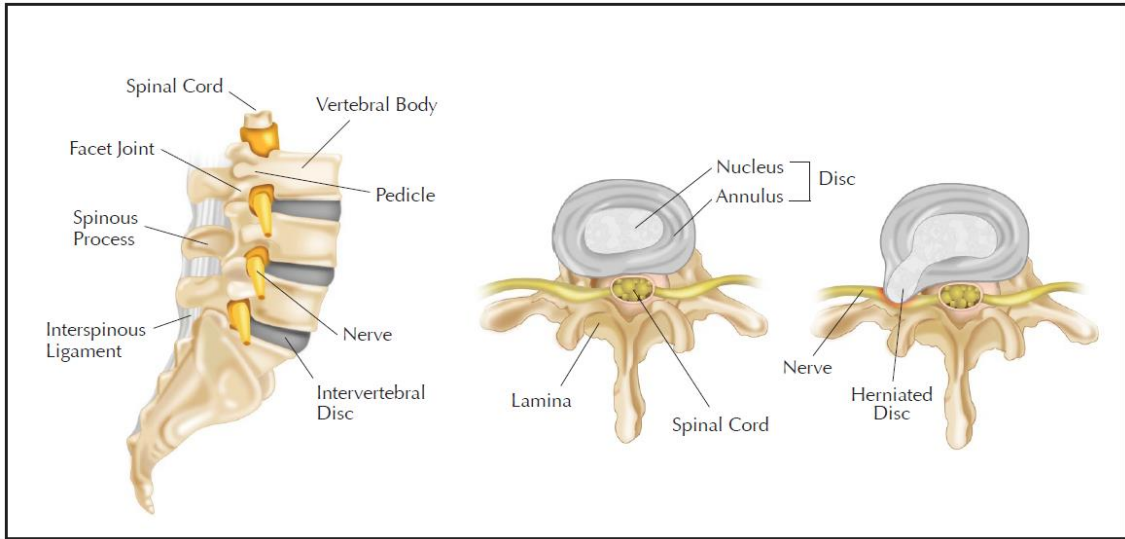
Mimarisi ve hücre dışı matriks kompozisyonu, vertebral düzey ve intradiskal bölgenin fonksiyonuna göre değişir. Dış AF, her biri paralel tip 1 kollajen lifleri ile oluşturulan bir dizi eş merkezli lamelden oluşur. Bu lifler, gerilme mukavemeti sağlayan açılı bir yapı oluşturmak amacıyla lameller arasında değişen oblik açılarla yönelim oluşturmaktadırlar. İç AF, dış AF ve NP arasında bir geçiş zonu oluşturmaktadır. Dış AF ile karşılaştırıldığında, interlamellar matriksi içinde daha yüksek oranda tip 2 kollajen ve proteoglikan içermekte ve böylelikle, kompresyon yüklenmesine karşı direnç sağlamaktadır (16).

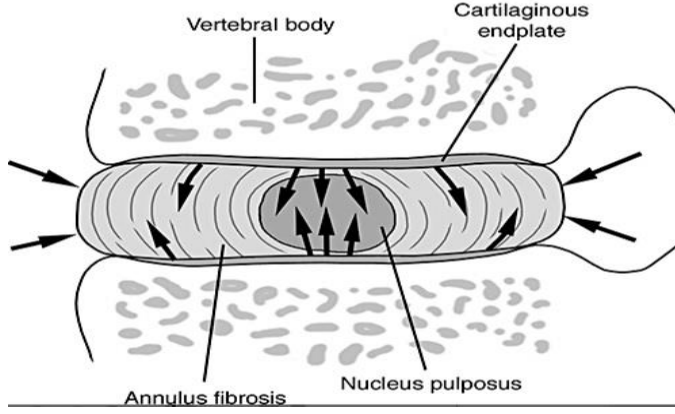
Özetle AF'nin birincil işlevi; uygulanan ozmotik basıncın NP tarafından muhafaza edilmesini ve İVD'nin gerilme mukavemetini sağlamaktır. Kollajen tip 1 ve tip 2 gerilme kuvveti oluşmasında ve disk dokusunun kemiğe tutunmasında anahtar rol üstlenmektedir. Öte yandan, diskin doku hidrasyonunu, kondroitin ve keratin sülfat zincirlerinin yardımıyla ana proteoglikan olan agrekan sayesinde sürdürülmekte ve böylelikle ozmotik basıncı korunmaktadır. AF, avasküldür ve en dış kısmı hariç, sağlıklı bir intervertebral diskte innervasyona uğramamaktadır. NP gibi, metabolitlerin taşınması büyük oranda difüzyona dayanmaktadır (17).

3.3 İntervertebral End Plateler

End plateler, sağlıklı bir yetişkinde, intervertebral diski daha yukarıya ve daha aşağıya bağlayan hiyalin kıkırdaktan oluşan diskoid yapılardır. Yetişkinlerin end plateleri, omur gövdelerinin gelişimi sırasında aktif olan fizis kalıntılarıdır. Omurlar arası diskin beslenme gereksinimleri, vertebra gövdesinin kansellöz kemiğindeki kapiller yataklardan, end platelerden ve NP'den difüzyonla karşılanmaktadır (11, 18, 19, 20).

Şekil 1: İntervertebral Disk Anatomisi Şematize Edilmiş Şekilde





4. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU

4.1 Epidemiyoloji

İVD dejenerasyonu, yetişkin popülasyonun büyük bir bölümünü etkileyen bir yaşlanma süreci olarak kabul edilmektedir. Bazı durumlarda asemptomatik olabilmesi ve detaylı değerlendirme için manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gerektirmesi sebebiyle, epidemiyolojik olarak değerlendirilmesi zor olmaktadır. Sonuç olarak, yetişkinlerde İVD dejenerasyonunun radyografik özelliklerinin prevalansının tahmini değerleri, T2 de azalmış sinyal intensitesi için % 9 ila % 85 ve yükseklik kaybı için % 3 ila % 56 arasında değişmektedir. İVD dejenerasyonu sadece morbidite ile sonuçlandı zaman klinik olarak önemli hale gelmektedir ve aksiyel bel ağrılarının % 39'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir. Aksiyel bel ağrısının, ABD'de yıllık 100 milyar doların üzerinde bir ekonomik etkiye sebep olduğu tahmin edilmektedir (21).

4.2 Etyoloji

İVD dejenerasyonunun altında yatan nedenler genellikle multifaktöryeldir. Çevresel faktörler (yaş ve sigara kullanımı, vibrasyon, travma, ağırlık kaldırma ve ağır işte çalışma) önemini korumasına rağmen, genetik ve herediter faktörlerin disk dejenerasyonu ve bel ağrısı için çok daha önemli bir predispozan faktör olduğu düşünülmektedir. Finlandiya'da yapılmış, monozigotik ve heterozigotik ikizleri karşılaştıran çalışmada, üst lomber omurgada İVD dejenerasyonunun % 61'inin ve alt lomber omurgada İVD dejenerasyonunun % 34'ünün ailesel kalıtımla, çevresel ve herediter faktörlerin ortak etkisi ile kaynaklandığını göstermiştir (22).

Bir diğ er ç alışmada ise, lomber ve servikal İVD dejenerasyonu için % 73 – 74 oranlarında herediter faktörlerin rol oynadığı bildirilmiştir. Aile ç alışmalarına ek olarak genetik araştırmalar da disk dejenerasyonuna ışık tutmuştur. Kollajen 1 (COL1A1), 9 (COL9A2 ve COL9A3), 11 (COL 11A2), MMP-3, IL-1, IL-6, vitamin D reseptörü, kartilaj intermediate tabaka proteini, hyaluronan ve proteoglikan link protein 1 genlerinin hepsinin disk dejenerasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tüm bu faktörlerin yanı sıra, intervertebral disk dejenerasyonunun en temel nedeni, diskin yapısı ve biyolojisinin birç ok modern insanın ömrü boyunca işlevini sürdürmede yetersiz kalmasıdır. İntervertebral diskteki fizyolojik ve biyomekanik olayların , dejenerasyonu başlatan hücresele strese neden oldukları bildirilmiştir (23).

4.3 Patogeneze

Dejeneratif İVD'leri tanımlamak için İVD dejenerasyonun patofizyolojisinde belli başlı kriterler belirlenmiştir. Bu kriterler; i) özellikle NP'de artmış tip 1 kollajen üretimi, ii) azalmış agrekan üretimi, iii) matriks metalloproteinazlar (MMP) ve ADAMTS aileleri gibi matriks bozunur enzimlerin düzenlenmesi, iv) tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin-1 (IL1) gibi inflamatuvar sitokinlerin daha fazla saptanması, ve v) sinir büyüme faktörü (NGF) ve brain derived nörotrofik faktör (BDNF) gibi büyümedeki nöral promotörlerin varlığı. Sonuç olarak, İVD dejenerasyonunda en önemli biyokimyasal değişim ECM kaybıdır. Bu kayıp NP'den başlamakta ve esas olarak proteoglikan ve tip 2 kollajende ki üretimin azalmasıyla devam etmekte ve hücre fenotipi değişimi ile sonlanmaktadır (24).

Disk dejenerasyonunun ilerlemesi, notokordial hücrelerini (NH) koruyan diğ er türlerin aksine, NH'lerin yerini olgun nükleus pulposus hücrelerin (ONPH) aldığı; insan ve diğ er türlerde sık görölmektedir. Diğ er taraftan, NH'lerin ONPH'lere göre metabolik olarak daha aktif oldukları; oksijen oranları ve laktat üretiminin yanı sıra glikoz tüketiminde de ONPH'lerden daha yüksek olduğu bilinmektedir (25). Guehring ve ark. NH'lerin ONPH'lerden daha fazla besin ve enerjiye ihtiyaç duyduklarını ve daha az dirençli olduklarını göstermiştir. NP ve iç AF vasküler beslenmeden yoksundur; bu sebeple biyosentetik aktivitelerini sürdürmek için NP hücreleri HIF-1a ekspresyonunu devam ettirmektedirler. HIF-1a yolunun insan NP hücrelerinde NOTCH1 yoluyla P tipi kollajen ve agrekan ekspresyonunu düzenlediği saptanmıştır. Böylece hipoksi, HIF-1a'ya bağlı bir şekilde bir

doku inhibitörü olan metalloproteinaz-1'in ekspresyonunu arttırmaktadır. MMP'ler ve bunların inhibitörleri olan TIMP'ler ise, ECM döngüsünün önemli düzenleyicileri arasında yer almaktadır (26).

Vasküler yatakların yoğunluğu ve bütünlüğü yaşla birlikte azalmakta ve türden türe değişim göstermektedir. Beklendiği gibi, disk yaralanmaları, subkondral end plate sklerozu ve mekanik etkiler, kapiller yatağın ve/veya subkondral end plate in yapısını bozmakta, besinlerin disk tarafından absorpsiyonunda önemli etkilenmelerle sonuçlandığı bildirilmiştir. Besin desteğinde ki azalmanın disk dejenerasyonu progresyonu üzerindeki etkisi, uzun zamandan beri bilinmektedir (27).

Sigara ve ateroskleroz gibi diskin vasküler yatağını bozan ve böylelikle beslemesini sınırlayan faktörler ve yaşlılıkta ve bazı disk bozukluklarında görülen ve geçirgenliği azaltarak besinlerin diske taşınmasını engelleyen end plate kalsifikasyonu, disk dejenerasyonu ile ilişkilidir (28).

Disk dejenerasyonunun erken aşamalarında, agrekan içeriğinin azalması ile, yük yoğunluğu azalmakta ve diskin kompresyon yüklerine karşı gelme kapasitesi azalmaktadır. Agrekan miktarındaki azalma, disk innervasyonunun artmasına neden olabilmekte, bu da genellikle disk dejenerasyonu ile ilişkili olan diskojenik sırt ağrılarına neden olmaktadır (29). Agrekan miktarında ki azalmanın haricinde disk dejenerasyonu diğer mekanizmalarla da bel ağrısına sebep olabilmektedir; lateral protrüzyonlara sekonder kök basısı, disk yükseklik kaybına sekonder faset eklemlere binen yükün artması ile bu bölgede meydana gelen dejenerasyon. AF içinde agrekan fragmentasyon seviyeleri de yaşla birlikte artmaktadır. Agrekan seviyelerinde azalma kısmen azalan sentez kapasitesine bağlı olabilmekte, ancak esas olarak ECM bozunması ile ilişkili olmaktadır (30).

Artan yaş ve dejenerasyon ile disk yapısı düzensizleşir; halka şeklinde lameller yapı düzensiz hale gelir ve agrekan yıkımı hidrasyon kaybına neden olur, bu da vertebralar arasındaki boşluklarda ilerleyici kayba yol açar. Agrekan konsantrasyonunda ki düşüş, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi büyük moleküllerin diske penetrasyonuna neden olmaktadır. Ek olarak, intervertebral diskteki agrekan, sinir büyümesini inhibe eder ve duyuşal sinir uyarımını azaltır, bu da agrekan kaybının, vaskülarizasyona ve diskin innervasyonunda artışa neden olabileceğini düşündürmektedir (31).

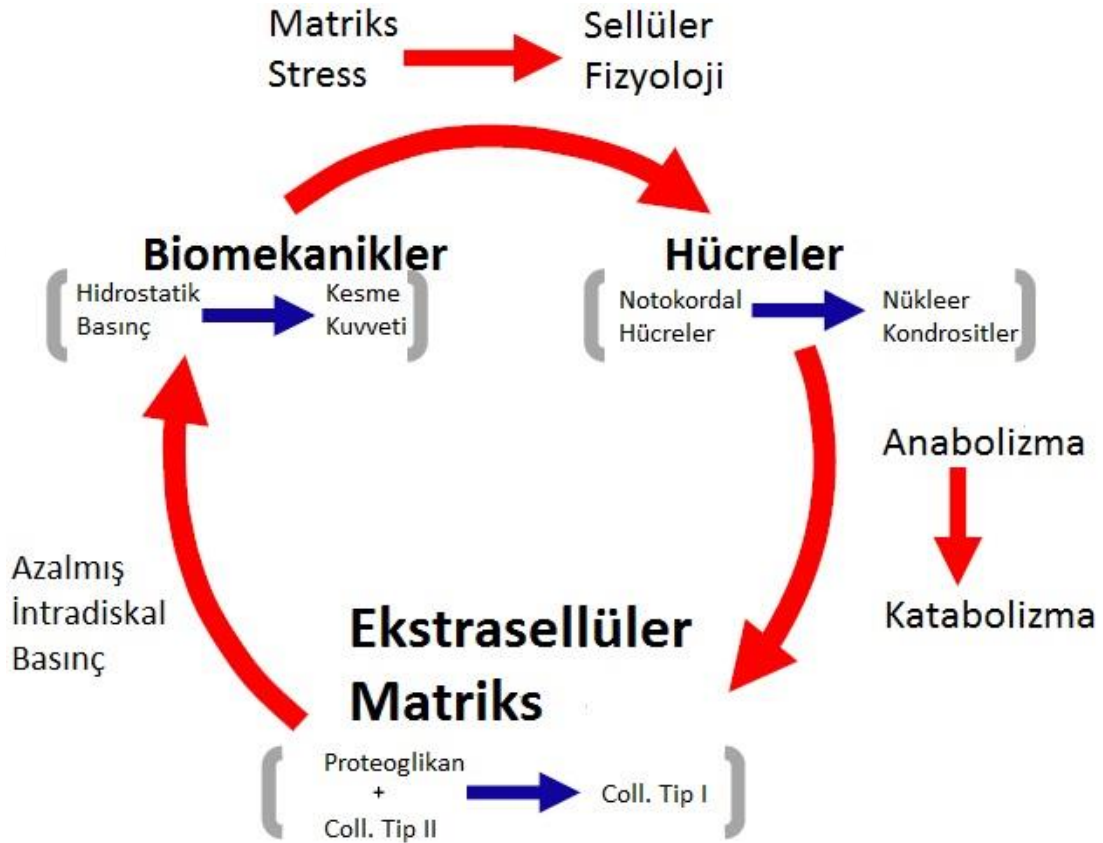
Enflamasyonun moleküler araçları patolojik disk dokularında bulunur. İnterlökin-1 beta (IL-1 β) ve TNF- α , IL-6, IL-8, IL-17 ve interferon gama (IFN γ)'nın dejenerasyonun derecesi ve sırt ağrısının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dejenere olmuş disklerdeki yapısal değişiklikler ve artmış vasküler ve nöral iç büyüme kronik bel ağrısıyla yakından ilişkilendirilmektedir (32).

Ayrıca otoimmün komponentinde disk dejenerasyonu ile güçlü bir ilişki içerisinde olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı İVD'ler avaskülerdir ve NP, immün sistemden gizlenerek, AF içinde yer almaktadır. Dairesel çatlaklar boyunca artanvaskülarizasyon, dejenere olmuş diskin bağışıklık sistemi hücreleriyle temas etmesini sağlar ve disk proteinlerinin epitoplari veya bozunma ürünleri otoimmün bir reaksiyonu tetikleyerek dejenerasyonu başlatırlar (33).

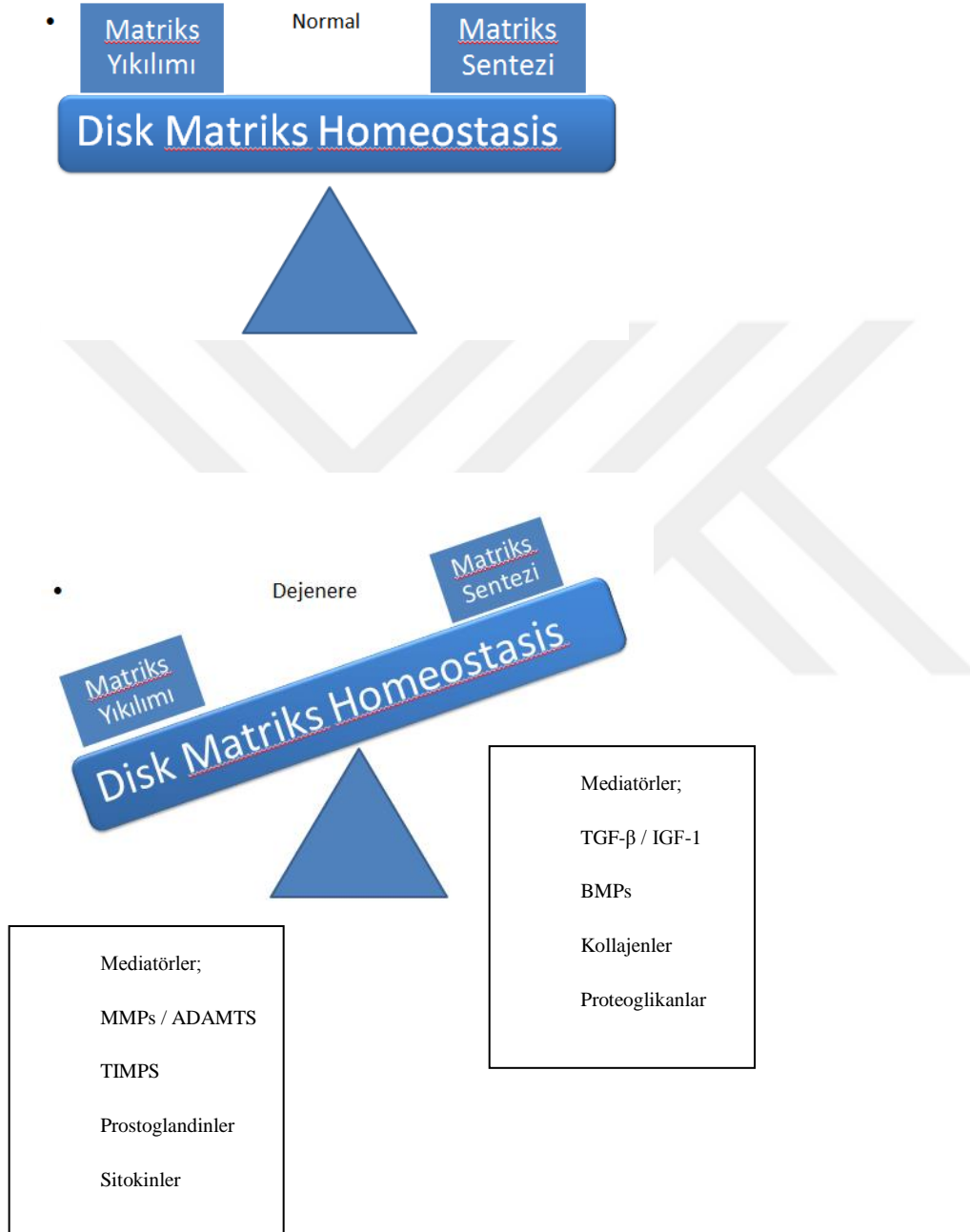
6 aylık gözlem süresince uygulanan prospektif bir vaka kontrol çalışmasında TNF- α pozitif bireylerin oranının, bel ağrısı grubunda kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gösterilmiş ve bel ağrısında TNF- α için olası bir patofizyolojik rol ortaya konmuştur. Diğer deneysel araştırmalar, sinirsel büyüme faktörünün aksonal büyümeyi indüklediği ve substance P üretimini arttırdığı için, dejeneratif NP'den ekstre edilen sinir büyüme faktörünün ağrı iletiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (34).

Proinflamatuvar sitokinler ve katabolik büyüme faktörleri gibi moleküllerin regülasyonu ile birlikte, ECM'nin homeostazisi; ECM bileşenlerinin (prostoglandinin [PG] büyük hidratlanmış agregatlarını, esas olarak agrekanı sınırlayan kollajen fibrilleri içermektedir) parçalanmaya başlamasıyla birlikte dejeneratif, katabolik yola doğru eğilim göstermektedir (35). Enflamasyonun moleküler medyatörlerinin yükselmiş seviyeleri patolojik disk dokusunda tanımlanmıştır ve dejenerasyon derecesi ile korelasyon gösterdiği gösterilmiştir. İVD'nin ilerleyici patolojisine katkıda bulunabilecek değişiklikler; nitrik oksit (NO) ve prostaglandin üretimi, metalloproteinaz ekspresyonu ve apoptozis düzenleyeci rolleri olan IL-1 β ve TNF- α için benzer sonuçlar gözlenmiştir. Bu nedenle, İVD dejenerasyonunun önlenmesi ve tedavisi için proinflamatuvar sitokinler ve matriks metalloproteazlarının üretilmesinden sorumlu sinyal yolunun önemli noktalarını belirlemek ve inhibe etmek çok önemlidir (36).

Şekil 2: İntervertebral disk dejenerasyonun da dejeneratif çember kavramı. İntervertebral diskin homeostazı, hücrelerin, hücre dışı matrikslerin ve biyomekanik stresin etkileşimine bağlıdır. Bu denge bozulursa, hücreler proteoglikanlar üretmeyi durdurur, bu hidrostatik basınçta bir azalma sağlar ve hücrelerdeki kayma kuvvetlerini artırır. Kesme kuvvetlerinin artması proteoglikanların üretimini daha da azaltır ve ilerici dejenerasyona yol açar.



Şekil 3: Matriks anabolizması ile katabolizması arasındaki denge, intervertebral disk dejenerasyonunda değişmiştir.



(ADAMTS, disintegrin ve metalloproteinaz eşlik eden thrombospondin motifleri; BMPs, kemik morfojenik proteinler; IGF-1, insülin benzeri büyüme faktörü 1; IL-1, interlökin-1; MMPs, matriks metalloproteinaz; TGF- β , transforme edici büyüme faktörü β ; TIMPs, doku metalloproteinaz inhibitörü; TNF- α , tümör nekrotize edici faktör α .)

İVD dejenerasyonunu tedavi etmek zordur, çünkü intervertebral diskler makroskopik ölçekte rejenerasyon kapasitesine sahip değildirler. İVD dejenerasyonunun patolojik ve radyografik belirtileri tezahür ettiğinde, bu değişiklikler geri dönüşümsüzdür ve sıklıkla ilerleyicidir. Bu nedenle tedaviler konservatif yaklaşımlardan, füzyon dahil majör cerrahiye kadar geniş spektrumda yer almaktadır. Ancak bu tedaviler ile İVD'in yapısını ve fonksiyonunu eski haline getirmek pek mümkün olmamaktadır. Rejeneratif yetenek eksikliğinin, intervertebral diskin avasküler doğası ve benzer şekilde difüzyon yoluyla elde edilen sınırlı beslenme ile ilgili olabileceği teorisi yapılmıştır (37,38).

Makroskopik rejeneratif kapasitesi olmamasına rağmen, intervertebral disk statik bir organ değildir. Sağlıklı intervertebral diskin hücre dışı matriksi, matriks anabolizması ve katabolizmasını içeren bir denge durumunda bulunmaktadır. Bu anabolik aktivite, matriksin en azından mikroskobik bir seviyede "rejenerasyonu" olarak değerlendirilebilir. İVD dejenerasyonu için deneysel rejeneratif tedaviler arasında, dejenere olan diskteki intrinsik anabolik yolları upregülasyon yönünde teşvik ederken, diğerleri ise dejenere olmuş diski, ekstrinsik hücreler ve düzenlenmiş dokularla takviye etmeyi amaçlamaktadır (39).

5. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE AĞRI

Bel ağrısı, genel popülasyonda çok yaygın multifaktöryel bir hastalıktır; vakaların % 30' unda kronikleşir, verimlilik kaybı ve artan sağlık bakım maliyetleri nedeniyle büyük ekonomik etkiye neden olmaktadır. Ağrı; yaşlanma, mekanik stres ve genetik yatkınlık ile ilişkilidir ve hastaların yaklaşık % 40'ında disk dejenerasyonuna bağlanmaktadır. Ayrıca kronik bel ağrısının patogenezinde, otoimmün komponent ile güçlü bir ilişki içerisinde olduğu gösterilmiştir (40, 41).

Bel ağrısı tüm ülkelerde toplumların genelini ilgilendiren, toplumlarda iş görmezliğe ve sağlık hizmetlerinin sık olarak kullanılmasına neden olan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Yıllık prevalansın %22-65 ve yaşam boyu prevalansın ise %11-84 arasında değiştiği bildirilmiştir. Tepe prevalans değeri ise 35-55 yaşları arasında gözlenmektedir (42).

Bel ağrısının ana nedeni, intervertebral disk dejenerasyonudur. Kartilajinöz end plate dejenerasyonu potansiyel olarak diskin dejeneratif değişikliğine neden olabilmekte veya bu süreci hızlandırabilmektedir. Kesin mekanizması bilinmemekle beraber, araştırmalar,

inflamatuar mediatörlerin kartilajinöz endplate dejenerasyonunda önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir (43).

Crock, NP'de enflamatuar faktörlerin difüzyonunun kartilajinöz end plate inflamasyonuna ve daha sonra dejenerasyona neden olabileceğini göstermiştir. Bu, disk herniasyonu olan hastalar için kemonükleozis sonrası komşu end plateelerde Modic değişikliklerin gösterildiği iki klinik çalışma ile desteklenmiştir. Ohtori ve arkadaşları, MRG'de saptanmış modic değişikliklere sahip hastaların kartilajinöz end platelerinde ki tümör nekrozis faktör-immünoreaktif hücrelerinin normal kartilajinöz end platelere göre daha yaygın olduğunu bulmuşlardır (44, 45).

İntervertebral diskin dejenerasyonu sırt / boyun ve radiküler ağrının en büyük sebebidir. Disk hücrelerinin kendileri tarafından salgılanan TNF -a, IL -1 a / β , IL-6 ve IL-17 gibi enflamatuar sitokin seviyelerinde yükselme ile karakterize edilir; bu sitokinler matris bozulmasını, kemokin üretimini ve hücre fenotipindeki değişiklikleri teşvik etmektedir. Katabolik ve anabolik cevaplar arasında ortaya çıkan dengesizlik dejenerasyonun yanı sıra herniasyon ve radiküler ağrıya da yol açmaktadır (46).

Dejenere disklerden kemokinlerin salınımı, T ve B hücrelerinin, makrofajların, nötrofillerin ve mast hücrelerinin infiltrasyonunu ve aktivasyonunu arttırmakta ve böylelikle enflamatuar kaskadı daha da güçlendirmektedir. Diske immünoisit göçüne dorsal kök ganglionundan kaynaklanan mikrofraktürler ve sinir liflerinin ortaya çıkması eşlik etmektedir. Bu enflamatuar ortamda, özellikle NGF ve BDNF'deki dorsal kök gangliyonlarında ağrı ile ilişkili katyon kanallarının ekspresyonunu uyarırlar. Bu kanalların depolarizasyonunun diskojenik ve radikal ağrıları arttırdığı ve sitokin aracılı dejeneratif kaskadı güçlendirdiği düşünülmektedir. Birlikte ele alındığında, sitokinlerin ve immün hücrelerin katabolik ve nosiseptif süreçlere katkısının daha iyi anlaşılması semptomatik disk hastalığının tedavisi için yeni hedefler sağlamaktadır (47,48).

İnflamatuar sitokin IL-1 β , osteoartrit ve intervertebral disk dejenerasyonunda önemli rol üstlenen yaygın bir proinflamatuar faktördür. IL-1 β , öncü ve inaktif formu olan pro- IL-1 β olarak sentezlendikten sonra; aktif formuna dönüşmesi için amino terminal bölgesinin kaspaz-1 tarafından bölünmesi gerekmektedir. Kaspaz-1 aktivasyonu, enflammatomlar olarak tanımlanan doğal immün kompleksler tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir.

Adaptör protein ASC ile birlikte NLR aile üyesi NLRP3 (NACHT, LRR ve PYD alanları içeren protein 3), kaspaz-1'i enflamazomlar ile birleştirerek aktive edebilmekte ve olgun IL-1 β 'nin sekresyonuna yol açabilmektedir (49).

Lomber intervertebral disk dejenerasyonu, semptomatik sırt ağrısı olan hastaların hemen hepsinde bulunmaktadır. Asemptomatik bireyler lomber MRG modalitesi ile incelendiğinde sıklıkla disk dejenerasyonu bulunmaktadır. Konvansiyonel düşünce yapısına göre, disk dejenerasyonunun bel ağrısının etiolojisinde önemli bir rol oynaması demek, asemptomatik bireylerde disk dejenerasyonunun nadir görülmesi gerektiğini öne sürmektedir. Bu bağlamda asemptomatik disk dejenerasyonu bilinmezliği çerçevesinde, bel ağrısının baskın nedeninin mekanik süreçler sonucunda disk dejenerasyonuna bağlı olduğu görülmüştür (50).

Akut ağrı durumlarında nosiseptif faktörler büyük rol oynamaktadırlar. Omurgadaki çeşitli yapılar, innervasyonlarına göre ağrının kökenini oluşturabilmektedir, ancak anormalliklerin klinik yorumunu sadece anatomik verilere göre yapmak hastalığın doğal seyri içerisinde pek mümkün görünmemektedir. Kronik ağrıda, psikososyal boyutlarda önemli hale gelmekte ve insanların bel ağrısına nasıl tepki verdiğini açıklamada önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, ağrının olası nedenleri veya gelişimini ve sonraki seyrini etkileyebilecek birçok faktör tanımlanmıştır (51).

Büyük populasyon örneklerinde yapılan kesitsel çalışmalardan elde edilen bulgular, bel ağrısı ile klinik görüntülemelerle elde edilen lomber disklerin dejenerasyonuna ait bulgular arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, meta-analiz bir derlemede, MRG ile tanımlanan lezyonların hiçbirinin bel ağrısı nedeni olarak belirlenemeyeceği, çünkü bu tür MRG anormalliklerinin asemptomatik olan bireylerde de oldukça yaygın olduğu bildirilmiştir (52).

6. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE CİNSİYET

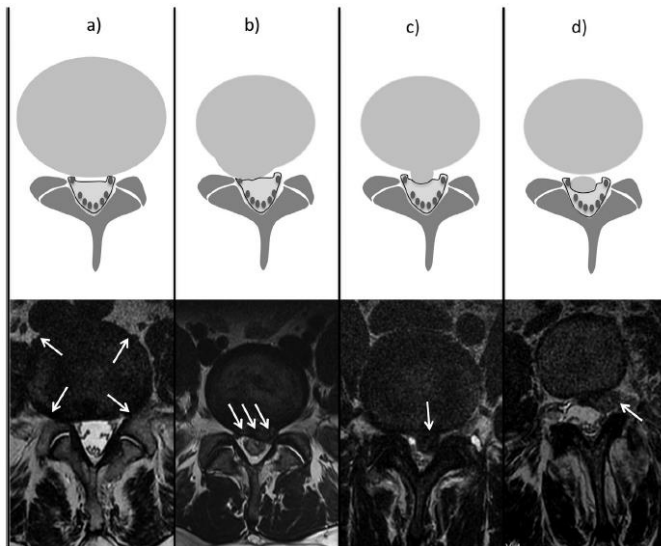
Lomber dejeneratif disk hastalığı olan hastaların; ağrı deneyimi, fonksiyonel algı ve sağlıkla ilgili yaşam kalitesi açısından cinsiyet farklılıklarına odaklanan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Literatürde cinsiyet farklılıklarına ilişkin preoperatif semptom ve

bunların şiddeti aynı zamanda postoperatif semptomlarda ki rahatlama ve bunların cinsiyete göre ayrımı giderek artan sıklıkla yapılmaya devam etmektedir. Ayrıca immün sistem elemanları ve bunların enflamatuvar olaylara cevabında, cinsiyete göre oldukça farklı yanıtlar görülebilmektedir. Özellikle hormonal faktörlerin, farklı yanıtlar görülmesinde önemli rol aldığı bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda İVD dejenerasyonuna sekonder gelişen immün yanıtları etkilememesi sebebi ile kadınlar çalışmaya dahil edilmemiş, sadece erkek disk materyalleri inceleme altına alınmıştır (53, 54).

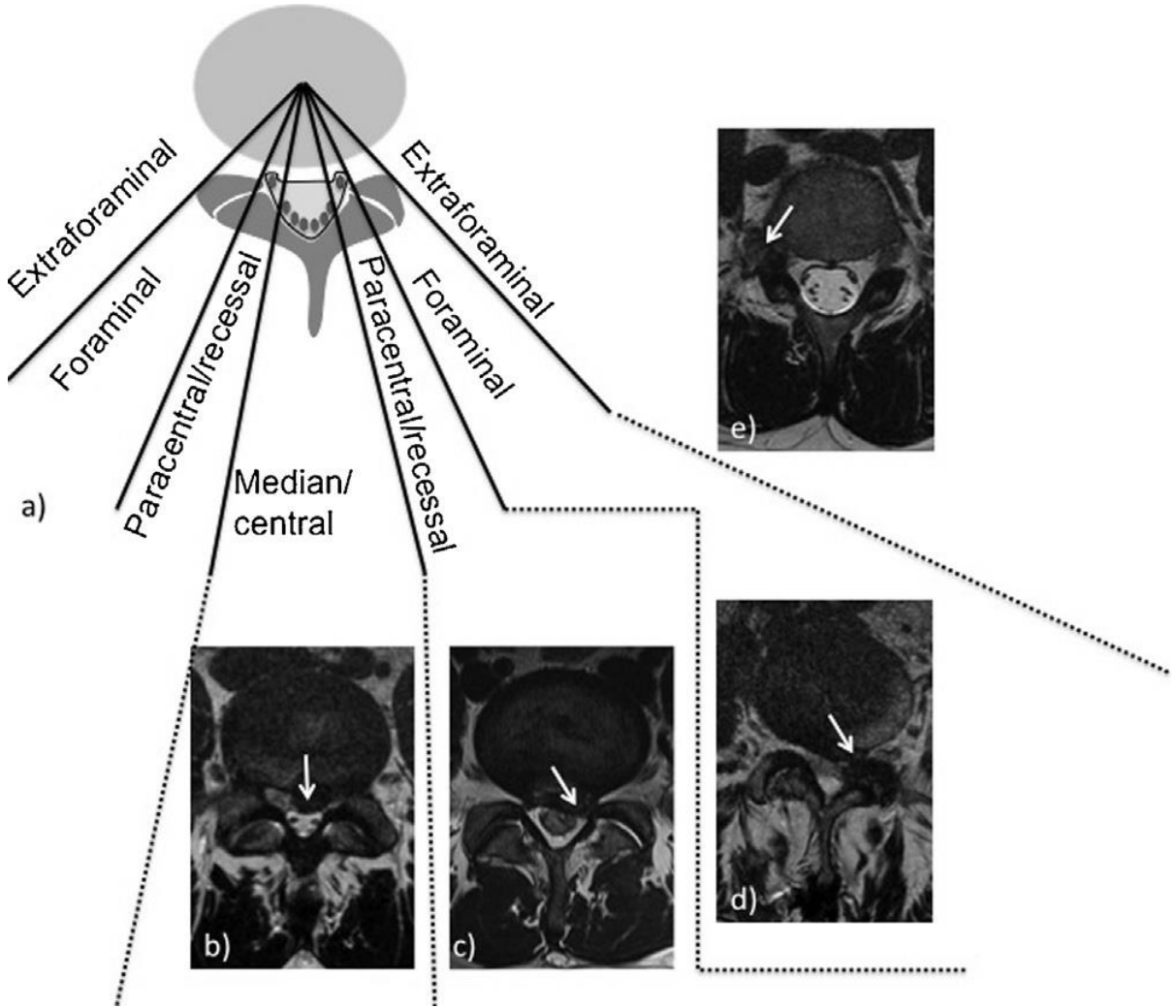
7. İNTERVERTEBRAL DİSK DEJENERASYONU VE MRG BULGULARI

MRG, DDH tanısında en sık kullanılan görüntüleme yöntemi haline gelmiştir. Bununla birlikte, DDH'nin MRG bulgularının, klinik semptomlarla korelasyonu tam olarak anlaşılammıştır. DDH için standart MRG protokolü tipik olarak iki boyutlu (2D) sagittal T1 ağırlıklı (T1A) hızlı spin eko (FSE), sagittal T2 ağırlıklı (T2A) FSE ve aksiyel T2A FSE görüntüleri içermektedir. MRG'de disk dejenerasyonu, intranükleer T2A sekansta hiperintensitede azalma ve ardından disk yüksekliğinde kayıp olarak kendini göstermektedir (55).

Şekil 4: Dejenerasyonun şematik gösterimi ve karşılık gelen aksiyel T2A FSE MR disk görüntüleri; (a) bulging (oklar), (b) protrüzyon (oklar), (c) ekstrüstasyon (ok) ve (d) sekestrasyon (ok).

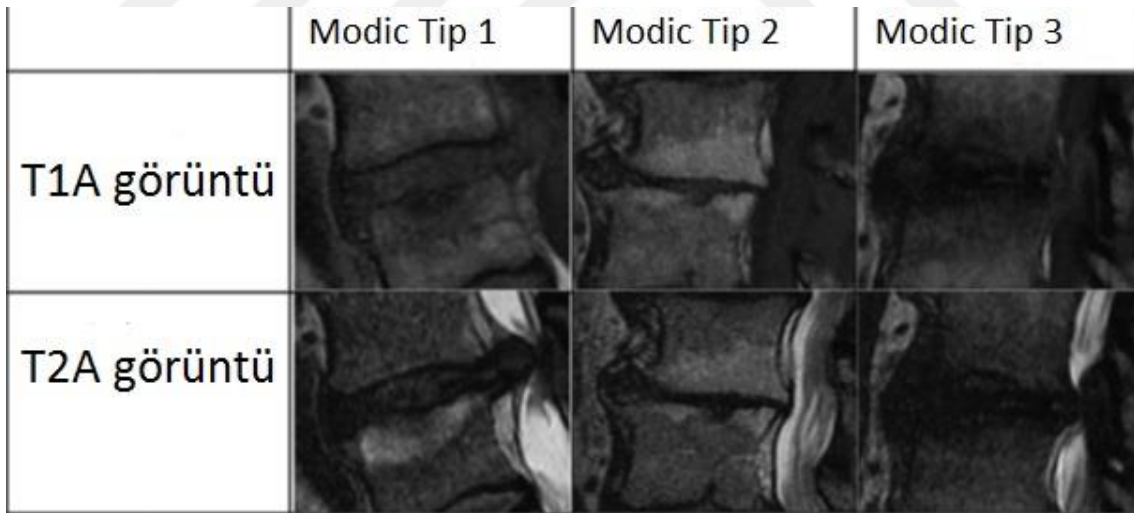


Şekil 5: (a) Aksiyal düzlemdeki disk hernisi potansiyel bölgelerinin şematik gösterimi. (b) median / santral disk ekstrüzyonunun (ok), (c) parasantral / resses geniş tabanlı protrüzyonunun (ok), (d) foraminal geniş tabanlı protrüzyonunun (ok) ve (e) ekstraforaminal disk herniasyonunun T2A FSE MR görüntüleri(ok).



MRG'deki end plate değişiklikleri ilk olarak 1980'lerde tanımlandı ve Modic ve ark. tarafından altta yatan kemik iliği sinyal değişikliklerine göre üç tipte sınıflandırıldı. Modic tip 1 değişiklikleri, kemik iliğinin stres reaksiyonuna cevabı sonucu, T1A sekanslarda hipointense ve T2A sekanslarda hiperintense olarak görülmektedirler. Perkütan biyopsiler sonucunda, altta yatan patomorfolojik değişikliklerin, subkondral kırıklardan ve hematopoetik kemik iliğinin yerini alan vaskularize fibröz dokulardan kaynaklandığı gösterilmiştir. Modic Tip 2 değişiklikleri T1A sekanslarda hiperintens ve T2A sekanslarda izointens veya hiperintens olup kırmızı kemik iliğindeki yağlı değişiklikleri göstermekte; ve Tip 3 değişiklikleri ise T1A ve T2A sekanslarda hipointens olup subkondral kemik sklerozunu göstermektedir (56).

Modic değişikliklerin ilerlemesi mutlaka tip 1'den 3'e kadar düzenli şekilde olmak zorunda değildir ve hatta Modic tip 1 değişikliklerin normal kemik iliğine bile dönüşebileceği bildirilmiştir. Modic değişiklikler ağırlı lomber disk hastalığı için spesifitesi yüksek (% 97), ancak sensivitesi düşük (% 23) olarak değerlendirilmektedir. Tip 1 ve 3 değişikliklerinin bel ağrısı ile (% 73) tip 2 değişikliklerden (% 11) daha yakın ilişkili olduğu ayrıca bildirilmiştir (57).



Şekil 6: Sagittal T1A ve T2A MR görüntüleri farklı Modic değişikliklerini göstermekte. Tip I, kemik iliği ödemi temsil eder (T1A hipointense, T2A hiperintense); tip II, yağlı kemik iliği değişimini temsil eder (T1A hiperintense, T2A hiperintense); tip III, kemik sklerozu varlığını gösterir (T1A hipointense, T2A hipointense).

Genel olarak, bel ağrısı olan hastalarda modic dejenerasyonu (MD) prevalansının yükseldiği gösterilmiştir. (bir meta-analiz çalışmada ağrısı olan hastalarda prevalansın % 43 iken asemptomatik popülasyonda ise prevalans yalnızca % 6 olarak saptanmıştır). MD alt lomber seviyelerde (L4 - S1) daha yaygın görülürken daha şiddetli semptomatolojiye neden olmaktadır. Genellikle vertebraların anterior 1/3'lük bölümünde diske simetrik olarak kranio-kaudal doğrultuda görülebilmektedirler (58).

MD tip 1 zaman içinde MD tip 2'ye ve son olarak MD tip 3'e dönüşebilmektedir. Lezyonların yaklaşık % 20'si mikst tip MD tip 1 / 2 veya MD tip 2 / 3 olarak görülebilmektedir. MD için risk faktörleri arasında; disk / end plate hasarı (dejenerasyon, disk herniasyonu), sistemik faktörler (sigara içme, yaşlanma, erkek cinsiyet, genetik) ve aşırı yüklenme (obezite, spinal deformiteler, yüksek iş yükü) bulunmaktadır (59).

MD'nin ağrılı olduğuna dair klinik kanıtlara rağmen, MD'nin etiyolojisi ve patobiyolojisi bilinmemektedir. MD ile dejeneratif disk arasında güçlü bir ilişkili olmasına rağmen, dejeneratif disk hastalığı olan bazı hastalar MD geliştirirken ve bazılarının ise neden geliştirmediği hala belirsizliğini korumaktadır. Bununla birlikte MD gelişme eğiliminin kemik iliği bileşimi - fonksiyonu ve bunun end plateler üzerinden diskle iletişim halinde olması kuvvetle muhtemel mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır (60).

Toll benzeri reseptörler (TLR) üzerinden dejenere disklerde görülen immün ve inflamatuvar süreç, komşu end plateleride etkilemekte ve TLR/MyD88 bağımlı yolağın disk dejenerasyonundaki önemli rolünün MD içinde aynı şekilde devam ettiği düşünülmektedir. Literatürde insan diskinde bu süreci gösterecek bir çalışma olmaması ve MD'te bu yolağın etkisinin kanıtlanmasının sürecin yönetimine ve potansiyel tedavi hedeflerine oluşturacağı direkt etki, bu konunun önemini daha da arttırmaktadır (61).

Özet olarak, MD için beş aşamalı patojenik bir süreç öngörülmektedir: (1) end plate hasarı (travma, dejenerasyona sekonder mekanik hasar), (2) disk bileşenlerinin kemik iliği hücrelerine karışarak steril bir immün yanıt tetiklemeleri; (3) diskten kaynaklanan inflamasyonun otoimmün yanıtı cevabı arttırması; (4) MD tetiklenmesi; (5) MD ortamının, end plate hasarını kötüleştirerek kısır bir döngüye sebep olması (62).

8. TOLL BENZERİ RESEPTÖRLER VE ENFLAMASYON

Toll benzeri reseptör (TLR) 4 ligandının, lipopolisakkaritin (LPS), TLR4 ile birleşmesi, memelilerde aşağı doğru iki hücre içi sinyalleşme yolunu aktive etmektedir; miyeloid farklılaşma primer yanıt geni (MyD) 88 bağımlı ve bağımsız yollar (63).

Toll-benzeri reseptör 4 (TLR4), doğuştan gelen bağışıklığı (innate immunity), spesifik bağışıklıkla ilişkilendiren klonlanmış bir transmembran sinyal reseptördür. Esas olarak bakteriyel lipopoli-sakkaritin (LPS) transmembran sinyal transdüksiyonuna aracılık etmektedir. TLR4'ün ligandlara bağlanması ile birlikte nükleer faktör-kappa B (NF-κB) aktive olmakta, immunité ve bağışıklıkla ilgili gen ekspresyonunu düzenlenmektedir. TLR'ler, zarar görmüş model molekülleri (DAMP) tanıyıp ve bir araya geldikleri zaman, bu kompleks hemen aşağı akım sinyal yolağını tetiklemekte ve transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir. Böylelikle inflamasyonun gelişmesini ve ilerlemesini indüklemektedirler (64, 65).

Çalışmalar, TLR aracılığının esas olarak; Toll benzeri reseptör- aracılı miyeloid differansiasyon yanıt protein 88 bağımlı NF-κB (TLR4 / MyD88 / NF-κB) sinyal yoluyla sağlandığını göstermiştir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi mikropların ilk tespiti için germline kodlanmış model tanıma reseptörlerini (PRR'ler) kullanır. PRR'ler, patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP) olarak bilinen mikroplara özgü molekülleri ve DAMP olarak adlandırılan hasarlı hücrelerden kendi kendine üretilen molekülleri tanımaktadır. PRR'ler, tip I IFN ve inflamatuvar sitokinler gibi diğer mediyatörlerin üretilmesi ile doğuştan gelen bağışıklık tepkimelerinin indüksiyonuna yol açan sinyal yollarını aktive etmektedir. Bu süreçler sadece inflamasyon gibi konağın savunma yöntemlerini tetiklemekle kalmaz, aynı zamanda antijene özgü adaptif immün yanıtları düzenler. Bu yanıtlar, enfekte mikropların temizlenmesinde ve aynı zamanda antijene özgü adaptif bağışıklık yanıtlarının oluşmasında çok önemlidir (66, 67).

Memeliler TLR'ler, RIG-I-benzeri reseptörler (RLR'ler), Nod-benzeri reseptörler (NLR'ler), AIM2-benzeri reseptörler (ALR'ler), C-tipi lektin reseptörleri (CLR'ler) ve cGAS gibi hücre içi DNA sensörleri dahil olmak üzere birkaç farklı PRR sınıfına sahiptir. Bunlar arasında, TLR'ler ilk belirlenen ve en iyi karakterize edilen grup olmuştur. TLR ailesi,

insanda 10 adet (TLR1-TLR10) ve farede 12 adet (TLR1-TLR9, TLR-TLR13) olarak bulunmaktadır. TLR'ler hücre yüzeyine veya endoplazmik retikulum (ER), endozom, lizozom veya endolizozom gibi hücre içi bölümlere lokalize olurlar ve lipid, lipoprotein, protein ve nükleik asit gibi farklı veya örtüşen PAMP'leri tanırlar (68).

Her bir TLR, PAMP tanınmasına aracılık eden lösün bakımından zengin tekrarlar (LRR'ler) içeren bir ektodomain, bir transmembranel domain ve aşağı akış sinyalinin başlatan bir sitoplazmik Toll / IL-1 reseptörü (TIR) domain alanlarını içermektedir. PAMP'lar ve DAMP'lerin tanınması üzerine TLR'ler, konakçıyı mikrobiyal enfeksiyondan koruyan tip I IFN'ler, sitokinler, ve kemokinlerin ekspresyonunu düzenlemek için NF- κ B, interferon düzenleyici faktör (IRF) veya mitojen ile etkileşen protein (MAP) kinazların aktivasyonu ile sonuçlanan sinyal iletim yollarını başlatan MyD88 ve TRIF gibi TIR domaini içeren adaptör proteinlere bağlanmaktadır (69).

TLR'ler, dendritik hücreler ve makrofajlar gibi doğuştan gelen immün hücrelerde ve ayrıca fibroblast hücreleri ve epitelyal hücreler gibi immün olmayan hücrelerde eksprese edilir. Lokalizasyonlarına göre hücre yüzeyi ve hücre içi TLR'ler olmak üzere iki alt aileye ayrılmaktadırlar. Hücre yüzeyi TLR'leri; TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR10'u içerirken, hücre içi TLR'ler endozomda lokalize olmaktadır ve TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, TLR11, TLR12 ve TLR13'ü içerir. Hücre yüzeyi TLR'leri esas olarak lipidler, lipoproteinler ve proteinler gibi mikrobiyal membran bileşenlerini tanımaktadırlar. TLR4, bakteriyel LPS tanımakta, TLR2, TLR1 veya TLR6 ile birlikte lipoproteinler, peptidoglikanlar, lipotekosik asitler, zimosan, mannan ve tGPI-musin dahil olmak üzere çok çeşitli PAMP'leri tanımaktadır. TLR5 bakteriyel flagellin'i tanımaktadır. Farede TLR10, bir durdurma kodunu ile bir araya gelmesi nedeniyle psödojen iken, insanda TLR10, listeria'dan gelen ligandları tanımak üzere TLR2 ile birlikte çalışmaktadır. TLR10 ayrıca influenza A virüs enfeksiyonunu da algılayabilmektedir (70).

İntrasellüler TLR'ler, bakteri ve virüslerden ortaya çıkan nükleik asitleri tanımalarının yanında otoimmünite gibi hastalık durumlarında da self - nükleik asitleri tanımaktadırlar. TLR3 viral çift zincirli RNA (dsRNA), küçük enterferansçı RNA'ları ve hasarlı hücrelerden türetilen self-RNA'ları tanır. TLR7 ağırlıklı olarak plazmasitoid DC'lerde eksprese edilir ve

virüslerden tek iplikli (ss) RNA'yı tanırken, aynı zamanda konvansiyonel DC'lerde streptococcus B bakterilerinin RNA'sını da tanımaktadır (71).

İnsan TLR8 viral ve bakteriyel RNA'ya yanıt vermektedir. TLR13 bakteriyel 23S rRNA ve vesicular stomatitis virüsünün bilinmeyen bileşenlerini tanır. TLR9, metillenmemiş CpG-DNA motifleri açısından zengin olan bakteriyel ve viral DNA'yı tanır; ayrıca, konak hemoglobinlerinin sindirilmesi sonrası detoksifikasyon işlemi sırasında Plasmodium falciparum tarafından üretilen çözünmez bir kristalin yan ürün olan hemozoini tanımaktadır. TLR11, endolizozomda lokalize olup, Toxoplasma gondii'den türetilmiş bir profilein benzeri molekülün yanı sıra flagellin veya bilinmeyen proteinli bir üropatojenik Escherichia coli bileşenini tanır. TLR12 baskın olarak miyeloid hücrelerde eksprese edilir, TLR11'e oldukça benzer ve T. gondii'den türetilmiş profileini tanır. TLR12, bir homodimer olarak veya TLR11 ile birlikte bir heterodimer olarak işlev görebilmektedir (72, 73).

Tüm TLR'ler ER'de sentezlenir, Golgi'ye transfer edilir ve hücre yüzeyine veya endozomlar gibi hücre içi bölümlere alınır. TLR'lerin hücre içi lokalizasyonunun, TLR'lerin otoimmüniteye neden olabilecek self nükleik asitlerle temasını önlemek için ayrıca ligand tanıma için de kritik olduğu düşünülmektedir.

Bireysel TLR'ler, MyD88, TRIF, TIRAP / MAL veya TRAM gibi bir dizi TIR alanı içeren adaptör üyelerini farklı şekilde toplamaktadır. MyD88 tüm TLR'ler tarafından kullanılır ve enflamatuvar sitokin genlerinin uyarılması için NF-κB ve MAPK'ları aktive eder. TIRAP, MyD88'i aynı TLR2 ve TLR4 gibi hücre yüzey TLR'leri ile bir araya getiren bir adaptördür. Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, TIRAP'ın TLR9 gibi endozomal TLR'ler yoluyla sinyallemede de yer aldığı gösterilmiştir. TRIF, TLR3 ve TLR4 ile birleşerek tip I IFN ve inflamatuvar sitokin genlerinin uyarılması için IRF3, NF-κB ve MAPK'lerin aktivasyonuna yol açan alternatif bir yolu uyarmaktadır.

TRAM ise TRIF ve TLR4 arasında bağlantı kurmak için TLR3'le değil, TLR4'le birleşmektedir. TLR3 doğrudan TRIF ile etkileşir ve bu etkileşim, epidermal büyüme faktörü ErbB1 ve Btk tarafından TLR3'ün sitoplazmik alanındaki iki tirozin kalıntısının fosforilasyonunu gerektirir. Sonuçta, adaptör kullanımına bağlı olarak, TLR sinyallemesi büyük ölçüde iki yola ayrılır: MyD88 bağımlı ve TRIF-bağımlı yollar (74-77).

8.1 TLR4/MyD88 Bağımlı Yol

TLR angajmanından sonra MyD88, Myddosome adı verilen IRAK kinaz ailesi üyeleri ile bir kompleks oluşturur. Myddosome formasyonu sırasında, IRAK4, çeşitli yerlerde otoposforile olan ve MyD88'den salınan IRAK1'i aktive eder. IRAK1, RING-alanı E3 ubiquitin ligaz TRAF6 ile birleşir. UBA13 ve UEV1A'nın ubiquitin-konjuge enzimi ile birlikte TRAF6, hem TRAF6'nın kendisinin hem de TAK1 protein kinaz kompleksinin K63'e bağlı polibinitrasyonunu artırır (78).

TAK1, MAPKKK ailesinin bir üyesidir ve TAK1 aktivasyonunu gerçekleştirmek için TRAF6 tarafından üretilen poliubiquitin zincirleriyle etkileşime giren TAB1, TAB2 ve TAB3 düzenleyici alt birimleriyle bir kompleks oluşturur. Bu kompleks içindeki TAK1 aktivasyon mekanizmaları aktif olmamakla birlikte, K1-bağlantılı ubiquitinasyon veya yakın-bağlı-bağımlı transfosforilasyon, TAK1 aktivasyonundan sorumlu olabilir. TAK1 daha sonra IKK kompleksi-NF- κ B yolu ve -MAPK yolunun aktivasyonuna yol açan iki farklı yolu aktive eder.

IKK kompleksi, katalitik alt birimler IKK α , IKK β ve düzenleyici alt birim NEMO'dan (ayrıca IKK γ olarak da adlandırılır) oluşmaktadır. TAK1, IKK kompleksine ubiquitin zincirleri ile bağlanarak IKK'yı fosforile ve aktive eder. IKK kompleksi, NF- κ B'nin proinflamatuvar gen ekspresyonunu indüklemek için nükleus translokasyonuna izin veren, proteazom bozulmasına maruz kalan NF- κ B inhibitör protein I κ Ba'yı fosforile eder. TAK1 aktivasyonu ayrıca, AP-1 aile transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna aracılık eden ERK1 / 2, p38 ve JNK gibi MAPK aile üyelerinin aktivasyonuna veya enflamatuvar yanıtları düzenlemek için mRNA'nın stabilizasyonuna yol açar (79, 80).

Fare embriyonik fibroblast hücrelerinde (MEF) TAK1 eksikliği, LPS stimülasyonundan sonra IKKs, p38 ve JNK'nin fosforilasyonunu azaltır. Bununla birlikte, TLR4 aracılı IKK, p38, JNK aktivasyonu ve sitokin indüksiyonu, TAK1 eksikli farelerden türetilen nötrofillerde artmıştır, bu da TLR sinyallemede TAK1 için hücre tipine özgü bir rol olduğunu düşündürmektedir (81).

Ayrıca, TLR sinyallemedeki (TAK bağlayıcı protein) TAB proteinlerinin fizyolojik rolleri de hala tartışmalıdır: TAB1- veya TAB2- eksik fareler TLR sinyalizasyon

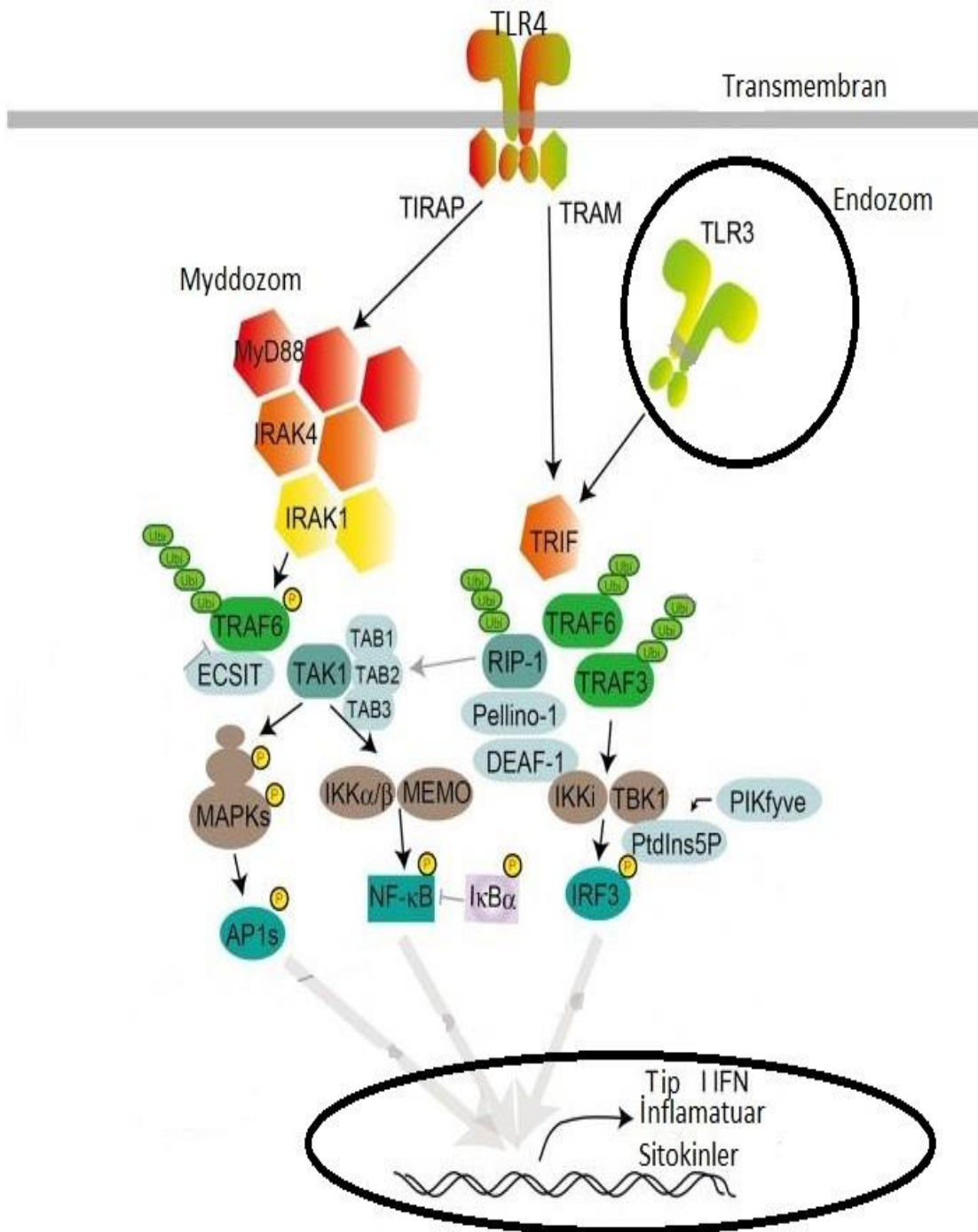
yollarında herhangi bir anormallik göstermez; TAB2 ve TAB3 için iki kat yetersiz fareler de MEF ve makrofajlarda TLR stimülasyonundan sonra normal sitokin üretimi gösterirler. TAB aile proteinleri, bu nedenle TLR sinyallemede birbirini kompanse edebilmektedir. Makrofajlardaki TLR2 ve TLR4 ligasyonları, bakterisit etki için mitokondriyal ROS üretimini artırır ve mitokondrileri fagozomlara çeker (82).

TRAF6, ECSIT'i ile etkileşime girdiği bakteriyel enfeksiyonu takiben mitokondriyal translokasyona uğramaktadır. TRAF6, artmış mitokondriyal ve hücrel reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna neden olarak ECSIT ubiquinasyonu desteklemektedir. TLR4 hem MyD88 bağımlı hem de TRIF bağımlı yolları aktive edebilmektedir (83). Bu yolların aktivasyonu, uygun yanıtları oluşturmak için birkaç molekül tarafından kontrol edilir.

İnflamatuvar sitokinlerin ve tip I IFN'nin dengeli üretimi, tümör hücresi büyümesini ve otoimmün hastalıkları kontrol etmek için önemli olabilmektedir. TRAF3'ün, TLR4 sinyallemede MyD88 kompleksinin yanı sıra TRIF kompleksine de dahil edildiği gösterilmiştir. Daha sonra MyD88 kompleksindeki TRAF3 indirgenir ve bu da TAK1 aktivasyonuna neden olur. Bu nedenle, TRIF-bağımlı yol aktivasyonunu desteklemedeki rolüne ek olarak, TRAF3, MyD88-bağımlı yolağı inhibe etmede de önemli bir role sahiptir (84, 85).

Şekil 7: Toll-benzeri reseptör bağımlı yol, şematize edilmiş.

TLR4 hücre yüzeyinde, TLR3 ise endozomlarda lokalize olmaktadır. Homo veya heterodimer oluşumu, iki ana aşağı akım adaptör proteinine, MyD88 ve TRIF'e sinyal vermeye başlar. TIRAP, sinyali TLR4'ten MyD88'e iletmekte, TRAM ise sinyale TLR4'ten TRIF'e kadar aracılık etmektedir. TLR katılımı ise MyD88'e bağlı olan ve ayrıca IRAK1 ve IRAK4 içeren Myddozom'un oluşumunu indükler. IRAK1 aktivasyonu, TRAF6'nın kendisinde ve TAK1'de bulunan K63'e bağlı poliubikininin ardından TRAF6 aktivasyonunu da indükler. TAK1 aktivasyonu, IKK kompleksi-NF-κB ve MAPK'ların aktivasyonuna yol açar. MAPK aktivasyonu AP1s transkripsiyon faktörü aktivasyonuna yol açar. TRAF6, ECSIT ubikinin'u indükleyerek artmış mitokondriyal ve hücrel ROS oluşumuna neden olmaktadır. TLR katılımı aynı zamanda TRAF6 ve TRAF3 ile birleşimini takiben TRIF aktivasyonunu da tetikler. TRAF6, MAPK aktivasyonunu takiben TAK1 kompleksini aktive eden RIP-1'i alır. Pellino-1, DEAF-1'e bağlanarak IRF3 aktivasyonunu düzenler. TRAF3, IRF3 fosforilasyonu için TBK1 ve IKKi'yi toplar. PIKfyve'den PtdIns5P, TBK1 ve IRF3 arasında kompleks oluşumunu kolaylaştırır. Bunların dışında, Birkaç negatif regülatör, sinyalizasyon kompleks oluşumunu veya ubikitlemeyi engelleyerek TLR sinyallemesini modüle etmektedir.



9. AMAÇ

TLR'lerin çoğunluğu uyarıldığında, TLR'yi aşağı akım sinyalleme kinazlarına bağlayan MyD88 olarak adlandırılan bir adaptör proteini ile etkileşime girer ve NF-κB aktivasyonu ile sonuçlanır (sitoplazmadan çekirdeğe translokasyon yoluyla) (86).

TLR4, iki ya da daha fazla yoldan, MyD88 ya da interferon-beta indükleyen bir TIR alan-içeren adaptör aracılığıyla (TRIF), TLR3 ise sadece TRIF ile sinyal iletimini etkileyebilmektedir. Bugüne kadar TLR4 geninin IVD NP hücrelerinde eksprese olduğu ve IVD dejenerasyonunun moleküler mekanizmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, IVD dejenerasyonunun da NP hücrelerinde TLR4'ü harekete geçiren sinyal transdüksiyon yolağının hangisi olacağı, bu yolaklarının kendi doğal mekanizmaları gibi henüz tam olarak bilinmemektedir (87).

Bu çalışmanın amacı, IVD dejenerasyonunda ki TLR4 sinyal yolunun, MyD88 bağımlı veya bağımsız yolaklarda olması ve ayrıca IVD NP hücrelerinde TLR4'ün aktivasyonu ile ilişkili sonuçları değerlendirilip belirlenmesidir. Böylelikle, MyD88'e bağlı TLR4 sinyal yolunun IVD dejenerasyonunun altında yatan hedef yol olduğuna dair hipotezin desteklenmesi ve IVD dejenerasyonuna sebep olan moleküler mekanizmaları araştırmak için teorik bir temel oluşturulması sağlanmaya çalışılmaktadır.

Ayrıca; bel ağrısı için bir prediktif faktör olarak görülen Modic değişikliklerinin rolü, sadece birkaç prospektif çalışmada değerlendirilmiş ve diğer dejeneratif bulgular, analizlere yaygın olarak dahil edilmemiştir. Yakın zamanlı bir kadavra çalışmasında, kemik endplate lezyonlarının bel ağrısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hem modic değişikliklerin hem de kemik endplate defektlerinin nosiseptif reseptörler açısından zengin olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, herhangi biri, spesifik olmayan bir bel ağrısı kaynağı olabilmektedir (88, 89).

Çalışmamızda ise, hastalar modic tip değişikliklere göre 3 ana grup altında toplanmış olup, MyD88'e bağlı TLR4 sinyal yolunun IVD dejenerasyonunun altında yatan hedef yol olması hipotezine dayanarak, bu yolakta görülen değişiklikler ve enflasyona yanıtın, modic tip değişikliklerle ilişkisi incelenmeye çalışılmıştır.

10. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Nöroşirurji Anabilim Dalı Polikliniğine bel ağrısı ve siyatalji şikayeti ile başvuran, lomber MRG ile değerlendirmenin akabinde dejenerasyon bulguları gösteren ve lomber disk hernisi (LDH) nedeniyle cerrahi tedavi endikasyonu mevcut olan 88 erişkin erkek hasta yazılı onam formu alınarak kliniğimizde opere edildi.

Hormon değişikliklerine bağlı disk dejenerasyonuna immun cevapta meydana gelebilecek potansiyel değişikliklerden kaçınmak için kadın hastalar çalışmamıza dahil edilmedi. Preop dönemde çalışmaya dahil edilen hastaların lomber MRG'si değerlendirildi ve Modic dejenerasyon sınıflamasına göre 3 ayrı grup oluşturulmuştur.

Modic tip 1 dejenerasyon; korpus endplatelerinin T1 sekans MRG'de hipointens, T2 sekans MRG'de ise hiperintens görülmesi ile, Modic tip 2 dejenerasyon; korpus endplatelerinin hem T1 hem de T2 sekans MRG'de hiperintens görülmesi ile ve Modic tip 3 dejenerasyon ise; korpus endplatelerinin hem T1 hem de T2 sekans MRG'de hipointens görülmesi ile sınıflara ayrılmıştır. Modic tip 1 dejenerasyonun kemik iliği ödemi ve inflamasyonu, Modic tip 2 dejenerasyonun normal kırmızı hemopoietik kemik iliğinin, iskiemiye sekonder sarı yağlı iliğe dönüşümünü ve Modic tip 3 dejenerasyonun ise subkondral kemik sklerozunu temsil ettiği kabul edilmiştir.

Hastalar ayrıca non steroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanımı olup olmamasına ve sadece bel ağrısı/eşlik eden radiküler ağrı olmasına göre de ana gruplar altında toplanıp değerlendirilmiştir.

Ciddi komorbiditeli hastalar, şuuru kapalı veya konfüze olup çalışmaya onay veremeyecek olan veya şuuru açık olup bilinçli bir şekilde çalışmaya onay vermeyen hastalar çalışma dışı tutulmuştur. Ayrıca daha önce LDH nedeniyle operasyon öyküsü bulunan bunun yanı sıra kronik sistemik hastalık, endokrinolojik hastalık ve tanı koyulmuş, tedavi uygulanmış onkolojik hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

LDH nedeni ile opere edilen hastalardan cerrahi tedavi sırasında disk materyalleri elde edilmiş olup, bu materyalleri sıvı Azot Tankı (-196 °C) ile transfer sağlanarak -80°C'deki dondurucuda muhafaza edilmiştir. Daha sonra toplanan materyaller İstanbul Üniversitesi

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda ve DETAM İmmunoloji Laboratuvarında ELISA yöntemi ile çalışılmıştır.

Lomber dejeneratif disk hastalığının oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülen; CD4, IKKA, NF KBA ve TRAF 6 gibi adaptör proteinlerin belirgin rol oynadığı, MyD88'e bağlı Toll like reseptör 4 sinyal yolu değerlendirilmiş ve bu yolun Modic tip dejenerasyon derecesi ile ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

10.1 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi

ELISA yönteminin prensibi, özgül antijen-antikor arasındaki reaksiyona dayanır. Bu teknikte işaretli antijen veya antikor tayin edebiliriz. İşaretli konjugatın hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra ayırma işlemi yapılır ve ortama bir substrat ilave edilerek spektrofotometrik olarak enzim aktivitesi ölçülür.



Luminex-DSA gibi solid faz immünoassay tekniğidir. Hüresel yöntemlere alternatif olarak yakın dönemde kullanıma girmiştir. Bu tanı yönteminin temeli, vücudun bağışıklık hücrelerinin bulaşıcı ajanların antijenleri ile bağlanmasıdır. Oluşan kompleks özel bir enzim kullanılarak belirlenir.

10.1.1 ELİSA Komponentleri

Katı faz (Matriks): Manüel ELISA yöntemlerinde kullanılan, genellikle çukurlarına analitlerin (antikor veya antijen) bağlı olduğu 96 çukurlu mikropleytlerdir.

Antikor: IgG fraksiyonlarıdır.

Enzim ve substratlar: Konjugatın işaretlenmesinde en sık kullanılan alkalen fosfataz (ALP) ve horseradish peroksidaz (HRP) enzimleridir. ALP için BCIP/NBT (5-bromo-4chloro-3-fosfat indolyl/Nitro mavi tetrazolium), HRP için TMB (tetramethylbenzidine) kullanılır.

Yıkama: ELISA yönteminde her bir safha arasında fosfatlı tampon solüsyonu (PBS) ile yıkama işlemi önemli yer tutmaktadır.

Durdurma: ELISA'nın son safhası olan 'reaksiyon durdurulması' basamağında asidik ve bazik çözeltiler (H₂so₂, HCL, NaOH) kullanılır.

ELİSA uygulama şekillerine göre 4 başlık altında incelenebilir;

- ❖ **Direkt ELİSA**
- ❖ **İndirekt ELİSA**
- ❖ **Sandwich ELİSA**
- ❖ **Kompetitif ELİSA**

10.1.2 Direkt ELİSA

Direkt ELISA yöntemi yüksek molekül ağırlıklı antijenin miktar tayini için uygundur. Numune içindeki antijenler nonspesifik olarak mikrotitre kabının kuyu yüzeyine bağlanır. İşaretli antikor kuyucuklara eklenir. Belirli sürelerde inkübe edilir. Yapılan yıkama işlemi ile bağlanmamış işaretli antikorlar ortamdan uzaklaştırılır. Kuyulardaki bağlanmış enzim işaretli antikor miktarı, ortama enzimin substratının eklenmesi ile oluşan renk değişimi sayesinde belirlenir.

10.1.3 İndirekt ELİSA

Numune içindeki antijenler mikrotitre kabının kuyu yüzeyine bağlanır. İlk olarak işaretsiz primer antikorlar kuyulara eklenir. Antijen ve primer antikor belirli sürelerde inkübe

edilir. Yapılan yıkama işlemi ile bağlanmayan primer antikorlar ortamdaki uzaklaştırılır. Sonrasında primer antikorlara spesifik, enzim ile işaretli sekonder antikor kuyulara eklenir. Belirli sürelerde inkübe edilir. Tekrar yapılan yıkama işlemi ile bağlanmayan işaretli sekonder antikorlar ortamdaki uzaklaştırılır. Son olarak enzimin substratı kuyulara eklenir ve elde edilen renk değişimi ile antikorlar belirlenir.

10.1.4 Nonkompetitif ELİSA (Sandwich yöntemi)

Bu test ile bilinmeyen örneklerin içindeki antijen miktarı belirlenir. Direkt veya indirekt ELISA ile oluşan renk değişimi antikorun varlığına işaret ederken; Sandwich ELISA da oluşan renk değişimi antijenin varlığına işaret eder. Sandwich ELISA' da antikorlar (yakalama antikoru) mikrotitre kabının kuyucuklarının katı fazına immobilize edilir. Antijeni içeren örnek daha sonra ilave edilir ve antijen antikor kompleksinin oluşması beklenir. Bağlanmamış proteinler yıkama basamakları ile uzaklaştırılır. Enzim işaretli ikinci bir antikor (deteksiyon antikoru), yakalama antikoruna bağlanmış antijene farklı bir epitopundan bağlanır.

Bağlanmayan deteksiyon antikorunun yıkama işlemi ile uzaklaştırılmasından sonra, ortama enzime ait substrat eklenir. Substrat deteksiyon antikoruna bağlı enzime reaksiyona girerek renk değişimine neden olur. Bu renk değişimi de spektrofotometre ile ölçülür. Renkli ürün oluşumu, işaretli ligandın (serumdaki antijen veya antikor) konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu tekniğin ana avantajı, antijenin kullanılmadan önce saflaştırılmasına gereksinim olmamasıdır ve sandwich ELISA çok spesifiktir. Bu tekniğin dezavantajı ise her antikorun kullanılmamasıdır. Seçilen monoklonal antikor kombinasyonları aynı antijen üzerinde üst üste binmeden farklı epitopları tanımalıdır.

10.1.5 Kompetitif ELİSA

Mikrotitre kabının kuyucuklarının katı fazına antijen veya antikor bağlanır. Çukurlara serum (işaretli ligand içerir) ve reaktif (işaretli ligand içerir) eklenir. İnkübasyon süresince immobilize antijen veya antikora bağlanmak için işaretli ligand ile enzim işaretli ligand yarışır. İnkübasyon ve yıkama işleminden sonra substrat eklenir. Reaksiyon sonucu oluşan renk değişikliği, hasta örneğindeki işaretli ligand miktarı ile ters orantılıdır. Örnekte ne kadar az işaretli ligand varsa birleşen işaretli ligand miktarı da o kadar fazla olacaktır.

Sonuçlar spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Kompetitif ELISA yöntemi, sıklıkla antikor ölçümünde kullanılmaktadır.

10.1.6 ELISA protokolüne göre standartların hazırlanışı:

Human Cluster of differentiation 4 (CD4)

Catalog. No: KTE62426

Detection Range: 2.5 µg/L – 40 µg/L

Human Inhibitor of KB kinase α (IKKα)

Catalog. No: KTE62802

Detection Range: 15 pg/mL – 240 pg/mL

Human Toll-like receptor 4 (TLR4)

Catalog. No: KTE60314

Detection Range: 1 ng/mL – 16 ng/mL

Human Inhibitory subunit of NF-κBα (IκBα)

Catalog. No: KTE62803

Detection Range: 150 pg/mL – 2400 pg/mL

Human Myeloid differentiation primary response 88 (MYD88)

Catalog. No: KTE62801

Detection Range: 1.5 ng/mL – 24 ng/mL

Human TNF Receptor Associated Factor 6 (TRAF6)

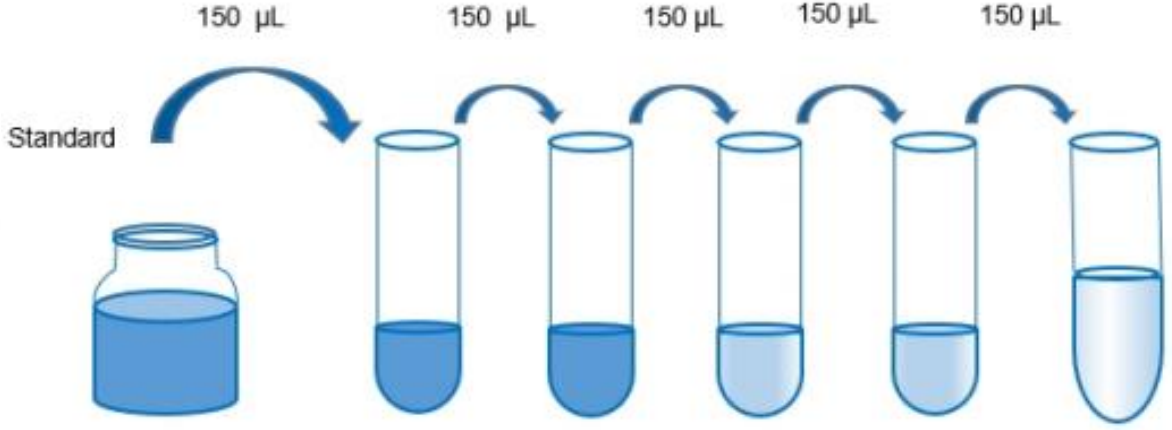
Catalog. No: KTE60138

Detection Range: 25 pg/mL – 400 pg/mL

10.1.7 Prosedür

-80°C'den çıkarılan örneklerin kademeli olarak çözünmesi sağlandı ve 6000 g 'de 2 dakika santrifüj yapıldı. Üst fazdan alınan 350 µl örnek, 350 µl sample dilüent ile 1:1 dilüe edildi.

10.1.8 Standartların Hazırlanması



Her tüpe 150 ul Standart Diluent eklendikten sonra; stok standart tüpünden 150 ul seri dilüsyon ile görseldeki gibi dağıtıldı. Her aşamadan önce pipetaj yapılarak eşit dağılması sağlandı.

10.1.9 Yıkama Solüsyonu

30X Yıkama solüsyonu distile su ile 1X olacak şekilde dilüe edildi ve yıkama aşamalarında bu solüsyon kullanıldı.

Immunoassay Prosedürü

1. Çalışmaya başlamadan önce tüm gerekli reaktifler hazırlandı.
2. Hazırlanan standart tüplerinden belirlenen kuyulara 50 µL standart eklendi.
3. Örneklerin test edileceği kuyulara 40 µL sample diluent eklendi. Aynı kuyulara 10 µL örnek eklendi. Blank olarak belirlenen kuyu boş bırakıldı.
4. Plate bir sealer ile kapatılarak ve 37 ° C'de 45 dakika inkübe edildi.

5. İnkübasyon sonrasında tüm kuyulardaki örnekler aspire edildi. 250 µL yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkama yapıldı. 5. yıkama sonrasında plate bir filtre kağıdı üzerine ters çevirilerek kalan yıkama solüsyonundan arındırıldı.

6. Blank kuyusu dışındaki tüm kuyulara 50 µL HRP-Konjugat saptama antikoru eklendi.

7. Plate yeni bir sealer ile kapatıldı ve 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi.

8. Yıkama işlemini 5. adımdaki gibi beş kez tekrarlandı.

9. Her kuyuya 50 µL kromojen A çözeltisi ve arkasından 50 µL bir kromojen B çözeltisi eklendi. Hafifçe karıştırıldı ve 15 dakika boyunca 37 ° C'de inkübe edildi. Bu aşamada ışıktan koruyundu.

10. İnkübasyon sonrası her kuyuya 50 µL Stop Solution eklendi. Kuyulardaki rengin maviden sarıya değişimi gözlemlendi.

11. Optik Yoğunluğu (O.D.), 450 nm'de **Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific™)** kullanarak okuma yapıldı.

11. İSTATİKSEL ANALİZ

Ağrı durumu ve ilaç kullanımlarına göre hastalar 2 grup altında değerlendirildiği için, normal dağılım gösteren ve varyansları homojen olan gruplarda, hastaların istatistiksel analizleri “independent t testi” ile gerçekleştirilmiştir. Varyansları homojen olmayan gruplar ise “Mann-Whitney U testi” ile karşılaştırılmıştır.

Modic tip dejenerasyonlarına göre hastalar 3 grup altında değerlendirildiği için, hastaların istatistiksel analizler “ One-Way ANOVA testi” ile gerçekleştirilmiştir. Normal ANOVA istatistiği varyanslar farklı olduğunda güvenilir sonuç vermediğinden bu durumlarda “ROBUST Test (Welch ve Brown Forsythe)” değerlerine bakılarak değerlendirme yapılmıştır.

Hangi gruplar arasında fark olduğunu belirlemek için ise “Post-Hoc” testler kullanılmıştır. Varyansları homojen olan gruplarda “Post-Hoc” test olarak “Tukey HSD, Scheffe, Bonferroni” kullanılırken, varyansları homojen olmayan gruplarda ise “Post-Hoc” test olarak “Tamhane, Dunnett T3, Games-Howell, Dunnett C” kullanılmıştır.

Grup karşılaştırmalarında olasılık değeri “p” eğer 0,05’ ten küçük ise fark anlamlı olarak kabul edilmiştir. Anlamlılık dereceleri ise aşağıda gösterildiği gibi sınıflandırılmıştır;

*: $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

***: $p < 0.001$

12. BULGULAR

Çalışmamıza siyatalji şikayeti ile başvuran 88 erişkin erkek hasta dahil edildi. Hormon değişikliklerine bağlı disk dejenerasyonuna immun cevapta meydana gelebilecek potansiyel değişikliklerden kaçınmak için kadın hastalar çalışmamıza dahil edilmedi. Yaş dağılımına bakıldığında hasta grubu 19 yaş ile 76 yaş arasında değişmekte olup ortalama değer 45,39 yaş olarak saptandı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların lomber MRG'si değerlendirilerek, hastalar Modic dejenerasyon sınıflamasına göre 3 ana grup altında toplandı. 88 hastanın 28'i (%31,8) Modic Tip 1, 40'ı (%45,4) Modic Tip 2 ve 20'si (%22,7) Modic Tip 3 olarak değerlendirildi.

Başvuru şikayetlerine göre hastalar, sadece bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı olup olmamasına göre 2 ana grup altında toplandı. Çalışma grubunu oluşturan 88 hastanın 16'sında (%18,1) sadece bel ağrısı şikayeti mevcut iken, hastaların 72'sinde (%81,8) başvuru esnasında bel ağrısına eşlik eden radiküler ağrının mevcut olduğu tespit edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalar, aktif şikayetlerin olduğu dönemde ilaç kullanımlarına göre 2 ana grup altında toplandı. Non steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanan hasta sayısı 49 (%55,6) iken, NSAİİ grubu ilaç kullanmayan hastaların sayısı ise 39 (%44) idi.

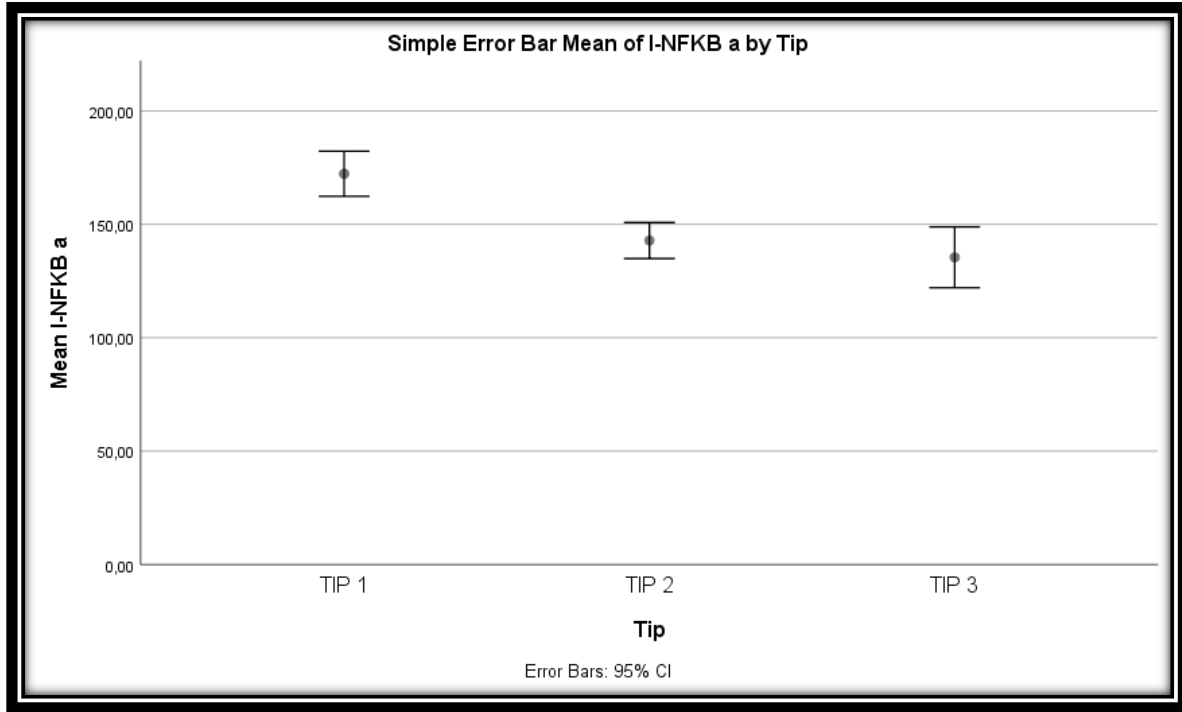
Hastalardan alınan disk materyal örneklerinin ELISA yöntemi ile çalışılmasının sonucunda, lomber MRG' deki Modic dejenerasyon tiplerine göre istatistiksel değerlendirmeler tablo-1'de gösterilmiştir.

Varyansları homojen olan grupta; NF-kB α 'nın 0.001 anlamlılık düzeyinde, IRF 3'ün 0.05 anlamlılık düzeyinde ve TICAM2'nin ise 0.01 anlamlılık düzeyinde en az iki grup arasında farklı olduğu gösterilmiştir. CD4 için ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (p=0.092).

Varyansları homojen olmayan grupta ise; IKK α , MYD88, NF-kB p65, TLR4 ve TRAF6 değişkenleri için 0.001 anlamlılık düzeyinde, TICAM1 için 0.05 anlamlılık düzeyinde fark bulunmuştur. TBK1 için ise istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,502).

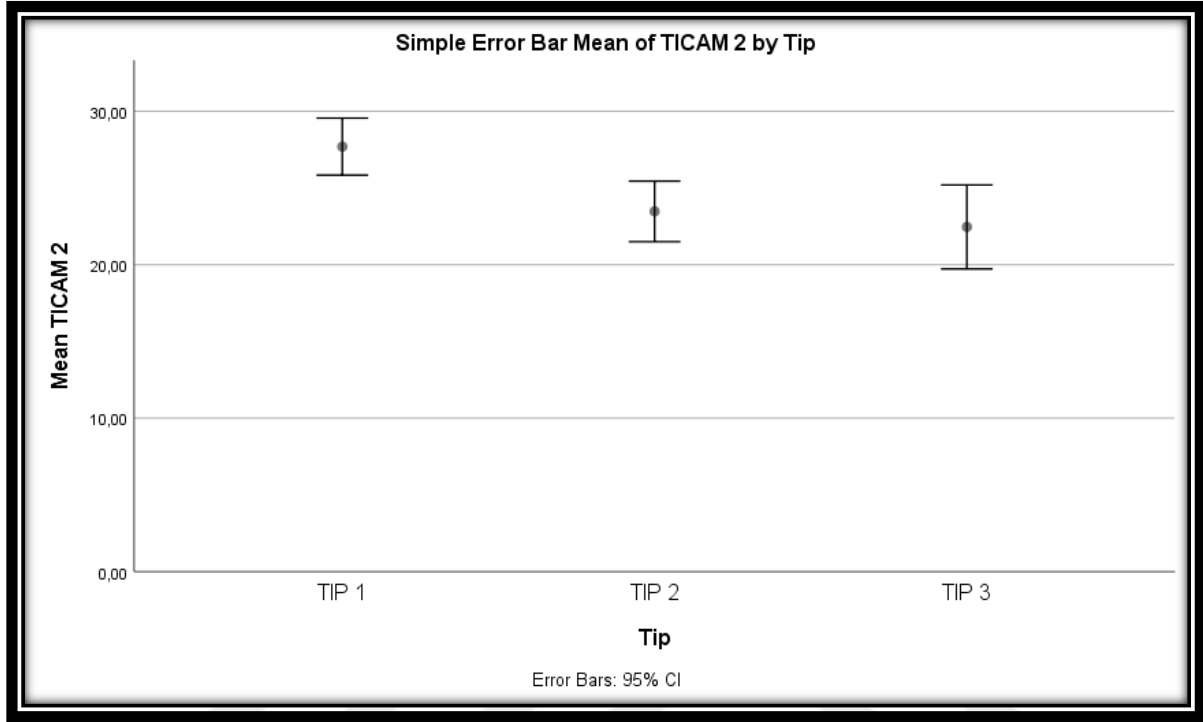
Tipler arasındaki farklılık değerlendirildiğinde ise; NF-kB α ve TICAM2 için Tip 2 ile Tip 3 arasında anlamlı fark olmamasına rağmen bu iki grubun Tip 1'den istatistiki olarak anlamlı farklılığı gözlenmiştir ($p < 0.05$) (şekil 8a ve 8b).

Şekil 8a: NF-kB α için Tip 2 ile Tip 3 arasında anlamlı fark olmamasına rağmen bu iki grubun Tip 1'den istatistiki olarak anlamlı farklılığı gözlenmiştir ($p < 0.05$).



		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
I-NFKB a	TIP 1	28	172,318367346939	25,6861206296886	4,8542205237259
	TIP 2	40	142,871428571429	24,8154844386031	3,9236726033225
	TIP 3	20	135,456428571429	28,6962395972836	6,4166742438147
	Total	88	150,555681818182	29,8770217714368	3,1849012221212

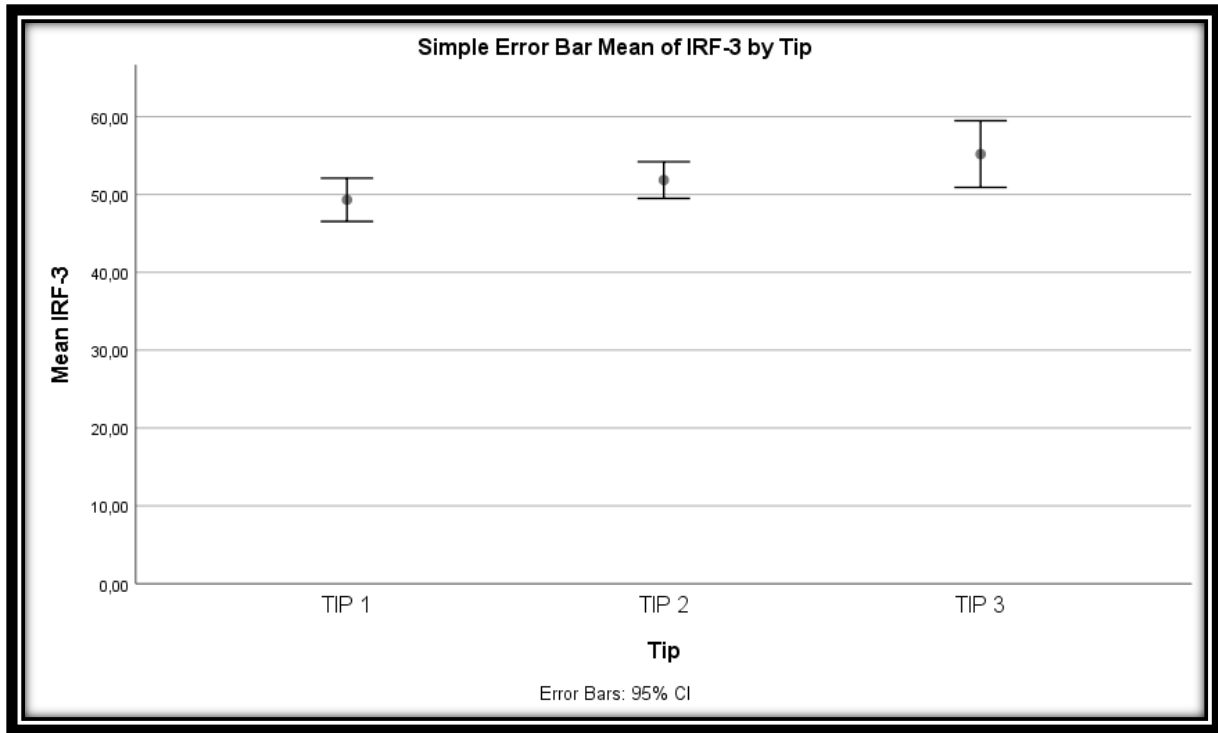
Şekil 8b: TICAM2 için Tip 2 ile Tip 3 arasında anlamlı fark olmamasına rağmen bu iki grubun Tip 1'den istatistiki olarak anlamlı farklılığı gözlenmiştir (p<0.05)



		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
TICAM 2	TIP 1	28	27,6996	4,79097	,90541
	TIP 2	40	23,4772	6,17558	,97645
	TIP 3	20	22,4630	5,84986	1,30807
	Total	88	24,5902	6,03446	,64328

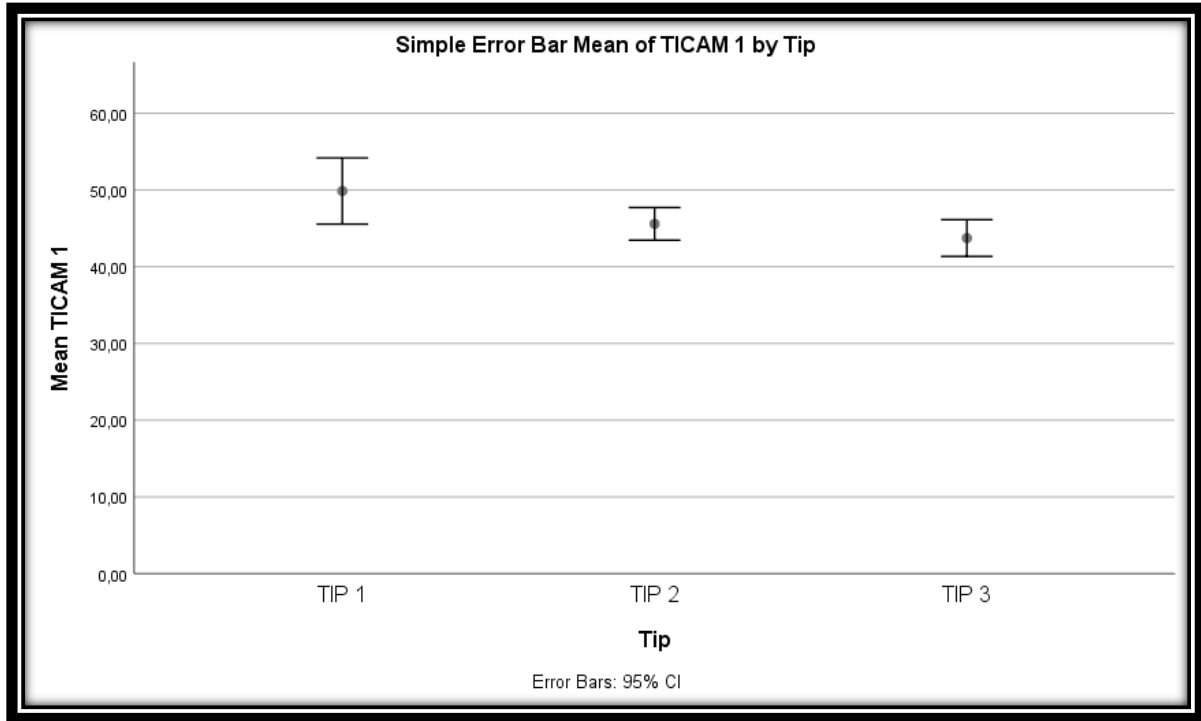
IRF3 ve TICAM1 için ise; Tip 1 ve Tip 3 ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmış olup ($p < 0,05$), Tip 2'nin ise hem Tip 1'den hem de Tip 3'den istatistiksel olarak anlamlı farklılığı bulunamamıştır ($p > 0,05$) (şekil 9a ve 9b).

Şekil 9a: IRF3 için Tip 1 ve Tip 3 ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmış olup ($p < 0,05$), Tip 2'nin ise hem Tip 1'den hem de Tip 3'den istatistiksel olarak anlamlı farklılığı bulunamamıştır ($p > 0,05$)



		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
IRF-3	TIP 1	28	49,3168	7,16477	1,35401
	TIP 2	39	51,8567	7,26396	1,16316
	TIP 3	20	55,1960	9,14605	2,04512
	Total	87	51,8069	7,91222	,84828

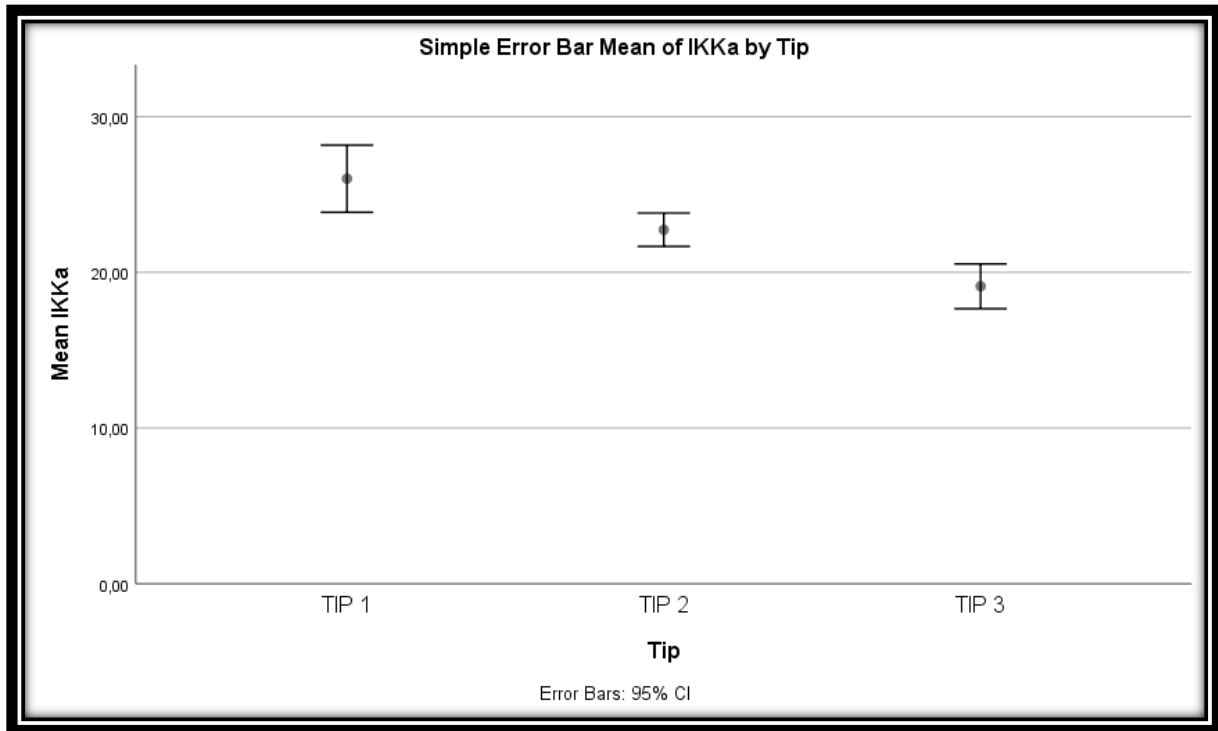
Şekil 9b: TICAM1 için Tip 1 ve Tip 3 ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmış olup ($p < 0,05$), Tip 2'nin ise hem Tip 1'den hem de Tip 3'den istatistiksel olarak anlamlı farklılığı bulunamamıştır ($p > 0,05$)



		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
TICAM 1	TIP 1	28	49,8714	11,13349	2,10403
	TIP 2	40	45,5868	6,64895	1,05129
	TIP 3	20	43,7360	5,11722	1,14424
	Total	88	46,5294	8,35476	,89062

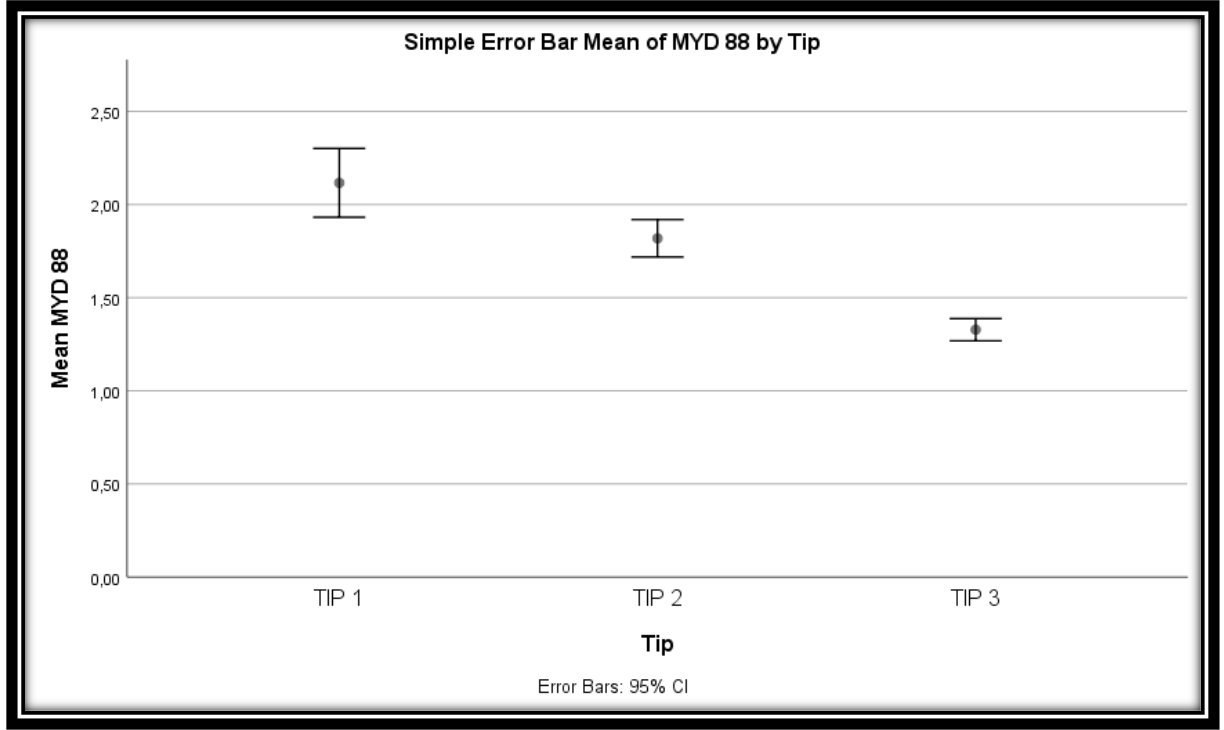
IKKa, MYD 88, Nf kb, TLR 4, TRAF 6 için ise; Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (şekil 10a, 10b, 10c, 10d ve 10e).

Şekil 10a: IKKa için Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$)



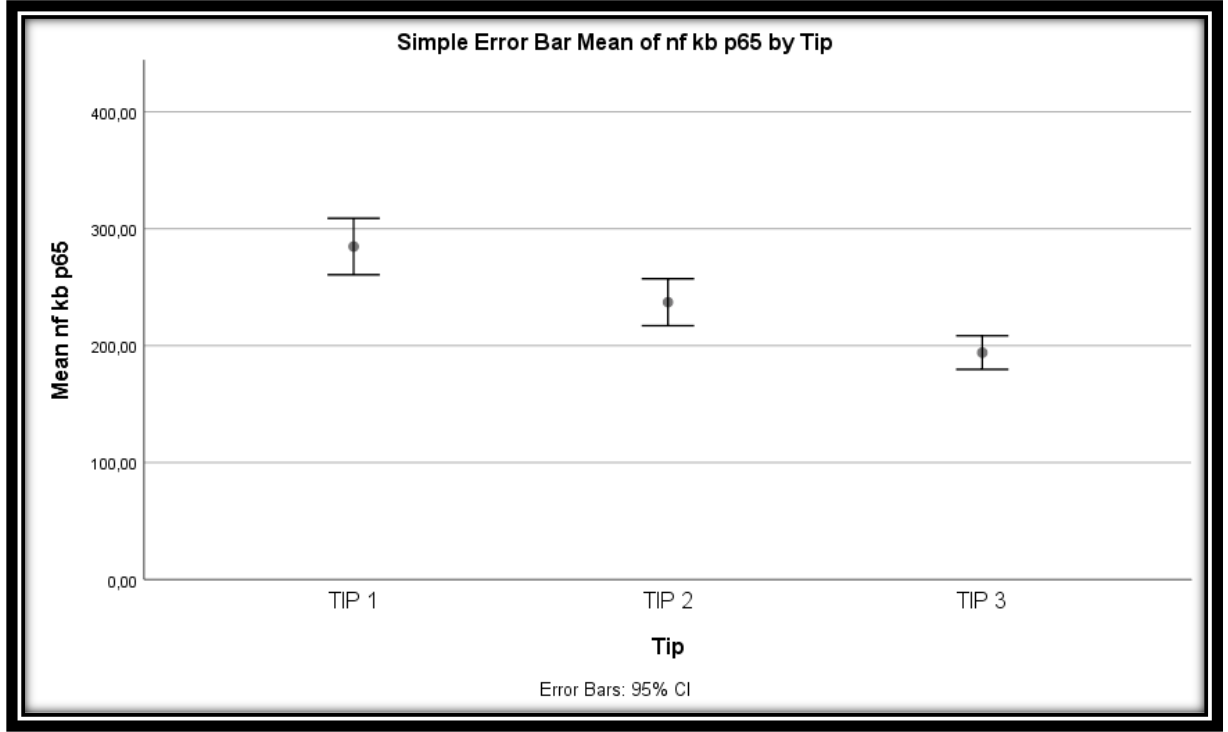
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
IKKa	TIP 1	28	26,016577825160	5,5575133107385	1,0502712948675
	TIP 2	40	22,736022388060	3,3543874674606	,5303752275950
	TIP 3	20	19,103835820896	3,0712791257042	,6867588902951
	Total	88	22,954338534600	4,8101501626031	,5127637302225

Şekil 10b: MYD88 için Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$)



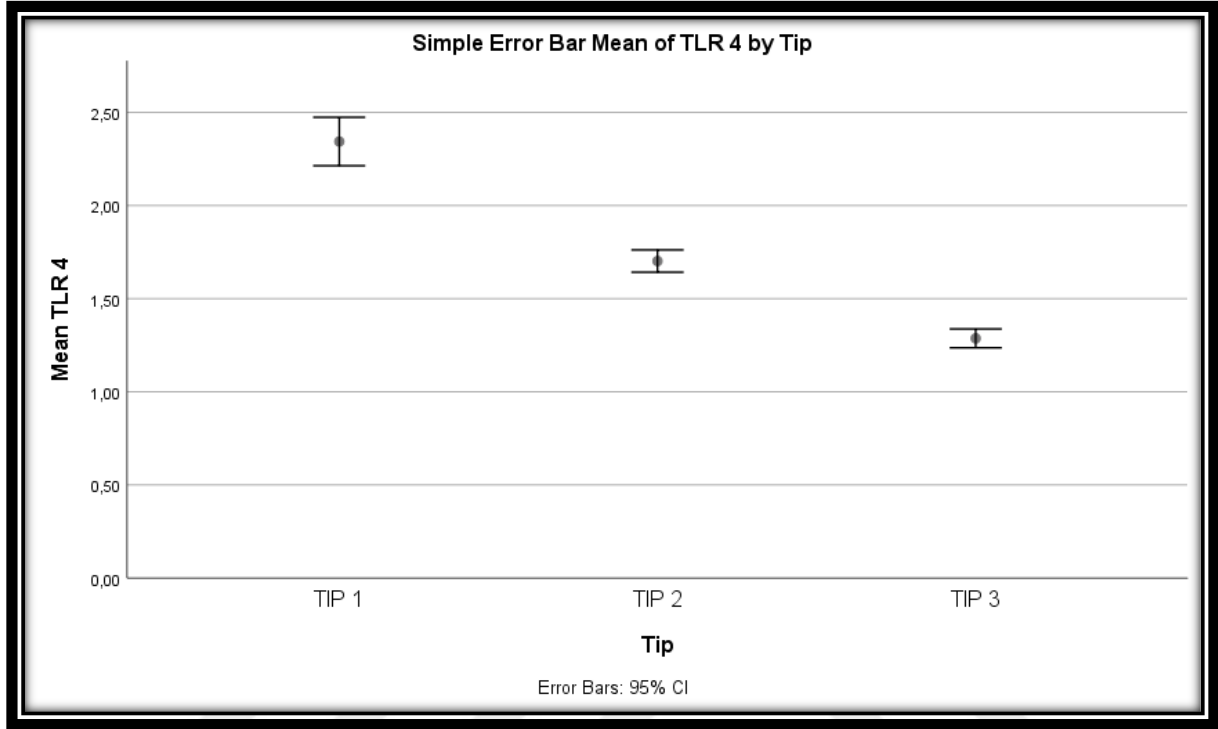
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
MYD 88	TIP 1	28	2,1164	,47667	,09008
	TIP 2	40	1,8185	,31417	,04968
	TIP 3	20	1,3280	,12759	,02853
	Total	88	1,8018	,44935	,04790

Şekil 10c: Nf kb için Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır (p<0.05)



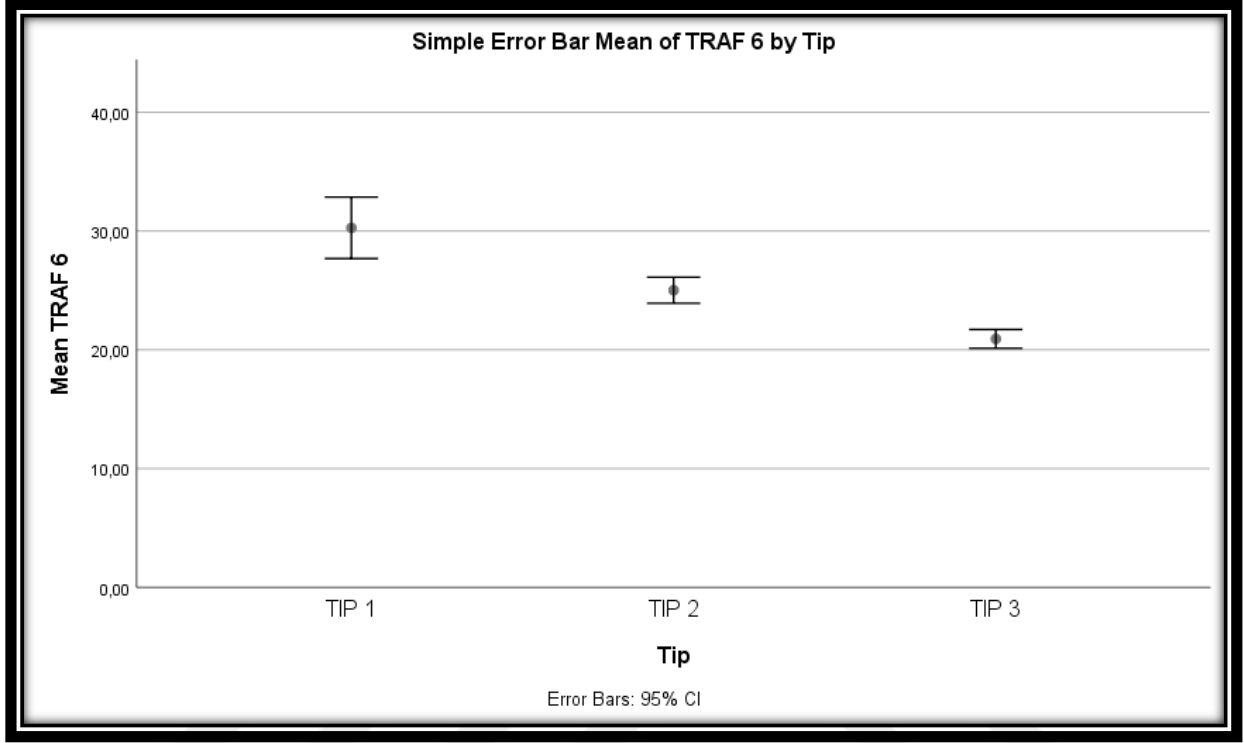
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
nf kb p65	TIP 1	28	284,7857	62,32166	11,77769
	TIP 2	40	237,1550	62,83915	9,93574
	TIP 3	20	194,0350	30,72404	6,87010
	Total	88	242,5102	65,65241	6,99857

Şekil 10d: TLR4 için Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$)



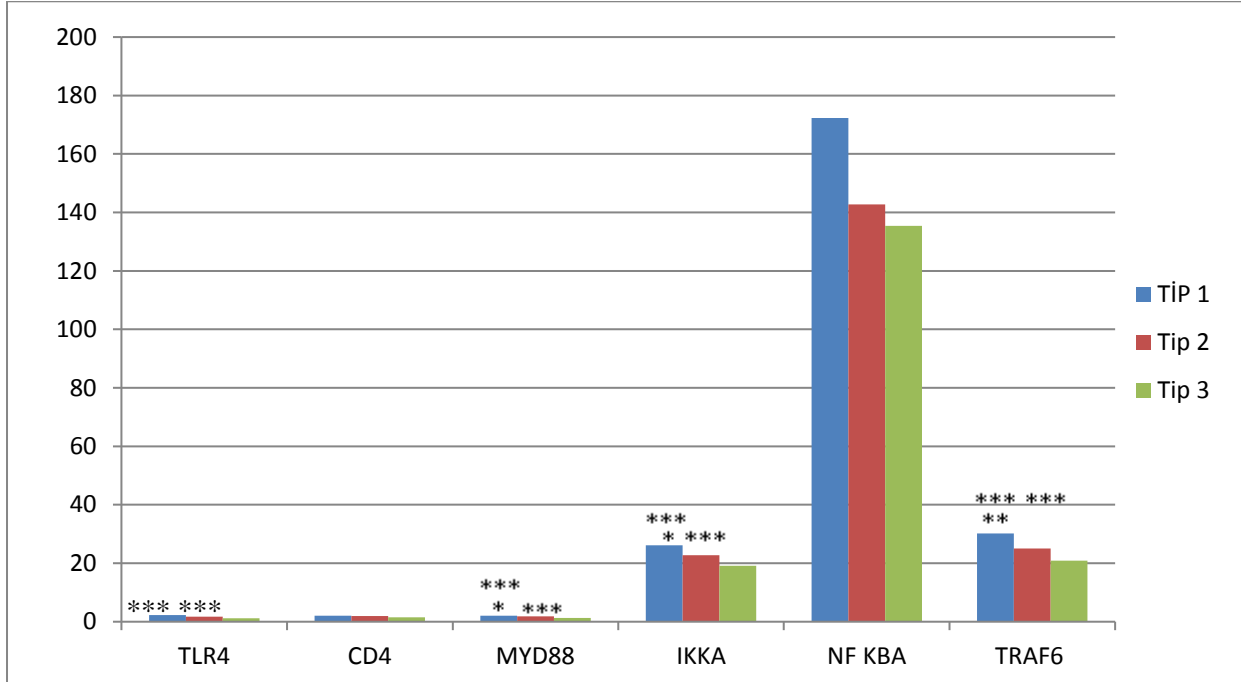
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
TLR 4	TIP 1	28	2,3436	,33512	,06333
	TIP 2	40	1,7018	,18770	,02968
	TIP 3	20	1,2870	,10810	,02417
	Total	88	1,8117	,46162	,04921

Şekil 10e: TRAF 6 için Tip 1, Tip 2 ve Tip 3' ün istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$)



		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
TRAF 6	TIP 1	28	30,2707	6,67780	1,26199
	TIP 2	40	25,0153	3,43177	,54261
	TIP 3	20	20,9190	1,68623	,37705
	Total	88	25,7565	5,65069	,60237

Tablo 1: Modic dejenerasyon tiplerine göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi



TLR4: Modic Tip 1 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 ve Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. Aynı zamanda Modic Tip 2 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. TLR4 değerlerinin en yüksek Modic Tip 1 dejenerasyonda, en düşük ise Modic Tip 3 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir.

CD4: Değerler, Modic Tip 1 dejenerasyondan, Modic Tip 3 dejenerasyona doğru azalmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

MYD 88: Modic Tip 1 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan ve $p<0.05$ (*) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. Aynı zamanda Modic Tip 2 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. MYD88 değerlerinin en yüksek Modic Tip 1 dejenerasyonda, en düşük ise Modic Tip 3 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir.

IKKA: Modic Tip 1 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan ve $p<0.05$ (*) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. Aynı zamanda Modic Tip 2 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. IKKA değerlerinin en yüksek Modic Tip 1 dejenerasyonda, en düşük ise Modic Tip 3 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir.

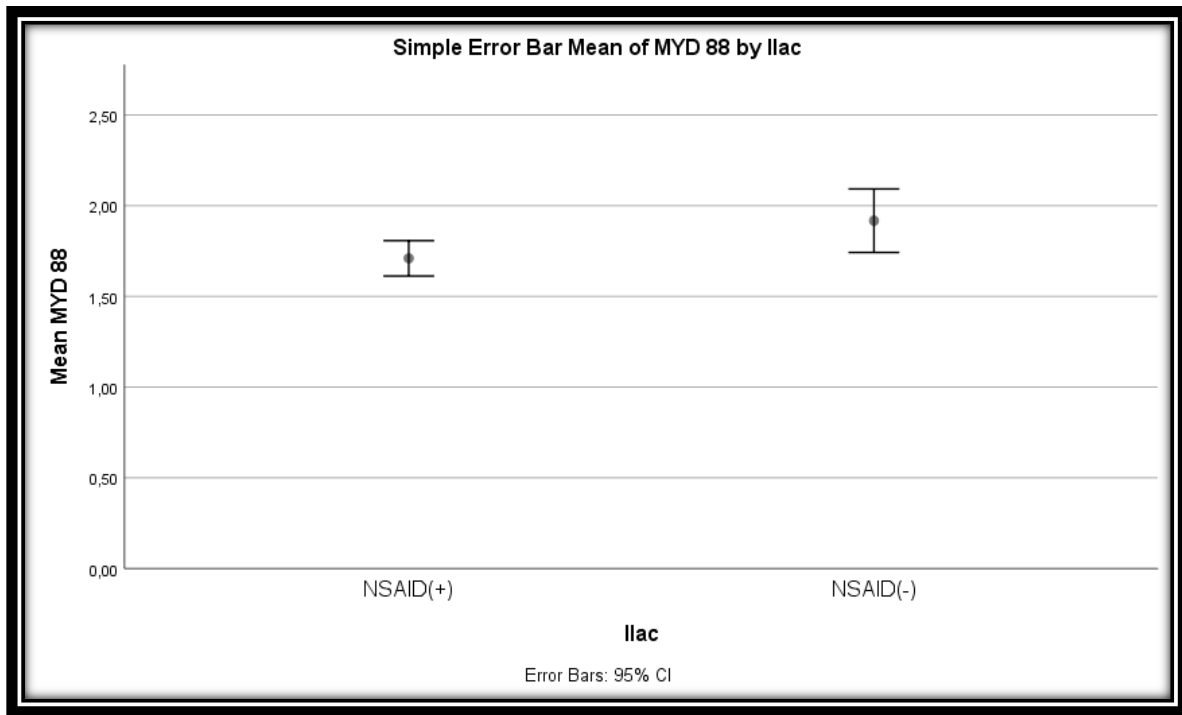
NF-KBA: Modic Tip 1 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 ve Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. Modic Tip 2 ve Modic Tip 3 dejenerasyon arasında ise istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). NF-KBA değerlerinin en yüksek Modic Tip 1 dejenerasyonda, en düşük ise Modic Tip 3 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir.

TRAF6: Modic Tip 1 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan ve $p<0.01$ (**) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. Aynı zamanda Modic Tip 2 dejenerasyon , $p<0.001$ (***) anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyondan istatistiksel analiz olarak farklıdır. TRAF6 değerlerinin en yüksek Modic Tip 1 dejenerasyonda, en düşük ise Modic Tip 3 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir.

Hastalardan alınan disk materyal örneklerinin ELISA yöntemi ile çalışılmasının sonucunda, NSAİİ ilaç kullanıp/kullanmama durumlarına göre istatistiksel değerlendirmeler tablo-2’de gösterilmiştir. MyD 88 değişkeni için varyanslar farklı çıkmış ve $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde istatistiksel analizde farklılık saptanmıştır (şekil 11).

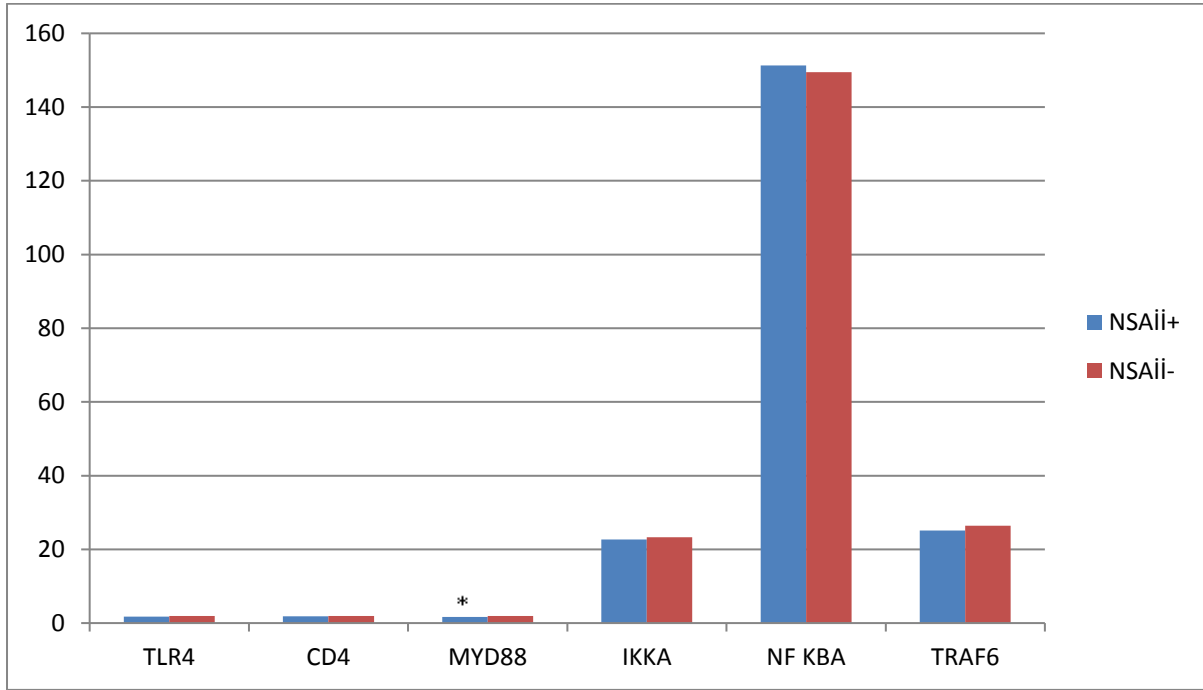
Diğer tüm değişkenler için istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Şekil 11: MYD 88 değişkeni için varyanslar farklı çıkmış ve $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde istatistiksel analizde farklılık saptanmıştır



	Ilac	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MYD 88	NSAID(+)	49	1,7100	,33934	,04848
	NSAID(-)	39	1,9172	,54063	,08657

Tablo 2: NSAİİ kullanım durumlarına göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi



TLR4: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında TLR4 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).İlaç kullanan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

CD4: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında CD4 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).İlaç kullanan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

MYD 88: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında MYD88 değerleri değerleri yönünden $p<0.05$ (*) anlamlılık düzeyinde istatistiksel analiz olarak fark saptanmıştır. İlaç kullanan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

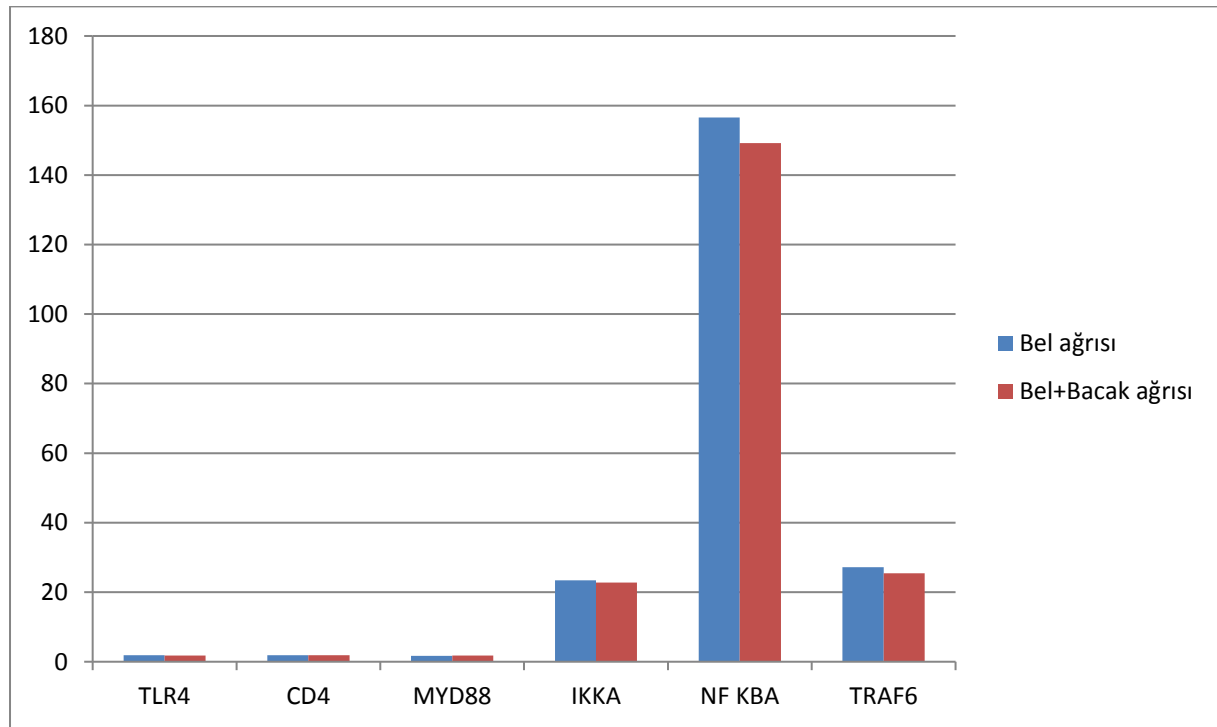
IKKA: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında IKKA değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).İlaç kullanan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

NF-KBA: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında NF-KBA değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).İlaç kullanan grupta, değerlerin daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir.

TRAF6: NSAİİ kullanan grup ile kullanmayan grup arasında TRAF6 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).İlaç kullanan grupta, değerlerin daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir.

Hastalardan alınan disk materyal örneklerinin ELISA yöntemi ile çalışılmasının sonucunda, örnekler bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı olmak üzere iki ana grup altında değerlendirildiğinde ise tüm değişkenler için istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (tablo 3).

Tablo 3: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı durumuna göre parametrelerin istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi



TLR4: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında TLR4 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Eşlik eden radiküler ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

CD4: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında CD4 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Sadece bel ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

MYD 88: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında MYD88 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Sadece bel ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

IKKA: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında IKKA değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Eşlik eden radiküler ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

NF-KBA: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında NF KBA değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Eşlik eden radiküler ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

TRAF6: Bel ağrısı ve eşlik eden radiküler ağrı grupları arasında TRAF6 değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).Eşlik eden radiküler ağrısı olan grupta, değerlerin daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

13. TARTIŞMA

Bel ağrısı, genel anlamda popülasyonun % 2 -% 5'inde ortaya çıkan, tıbbi müdahale veya iş göremezlik durumlarına kadar gidebilen ciddi bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (90). İnatçı, spesifik olmayan bel ağrısının kesin nedenleri hala belirsiz olmakla birlikte, kronik bel ağrıları ve modic dejenerasyonlar arasında potansiyel bir moleküler temele dayanan ilişki olduğu literatürde belirtilmeye çalışılmıştır (91). Ancak herhangi bir çalışmada bu ilişkinin ne düzeyde olduğu veya temelini ne olduğu net şekilde ortaya konamamıştır.

NP'lerin otoimmün özelliklerini gösteren veriler hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir. Ayrıca, otoimmün reaksiyonların hem İVD dejenerasyon sürecini hem de bel ağrısını alevlendirebilecek birçok enflamatuar kimyasal faktörün salgılanmasında etkili olduğu ortaya konmaya çalışılmıştır.

NP'un kartilajenöz endplate'e doğru protrüde olması ile intervertebral disk çevresinde inflamasyon meydana geldiği, ve bu olayın kronik bel ağrısını tetikleyen büyük miktarda sitokin salınımı ile sonuçlandığı hipotez olarak yayınlarda bildirilmiştir (92). Bu immünolojik reaksiyonun, özellikle Modic tip 1 olmak üzere, diğer tip Modic dejenerasyonlar ile yakın ilişkili olduğu düşünülmüştür (93).

İVD dejenerasyonunda önemli rol oynadığı daha önce gösterilmiş olan TLR4'ün (94), modic tip dejenerasyona katkısı ayrıca meydana gelen immünolojik reaksiyon zincirinde MyD88 bağımlı yolağı kullanıp kullanmadığı ve de bu yolağın ayrıca modic tip dejenerasyon ile ilişkisi, lomber disk hernisi nedeniyle opere edilmiş hastaların disk materyallerinde gösterilerek bu özgün çalışma oluşturuldu.

Enfeksiyon yokluğunda proinflamatuvar faktörlerin artışı olan steril inflamasyon, disk dejenerasyonunun özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır. IL-1, TNF α , IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler, ayrıca anjiyojenik faktörler ve nörotrofinlerin hepsi dejenerasyon sırasında artmaktadır (95). Bununla birlikte, IL-1 ve TNF α gibi sitokinler, dejenere olmayan disklerde düşük seviyelerde eksprese edilebilmektedir. Bu nedenle, tek başına sitokinler, disk dejenerasyonu sırasında erken aşamalarda meydana gelen steril enflamasyonu açıklamamaktadır.

ECM degradasyonu ise, disk dejenerasyonunun ilk aşamalarından itibaren önemli rol üstlenmektedir. ECM fragmanları ayrıca ‘‘alarmin’’ olarak da adlandırılan DAMP'ler olarak görev yapabilir. Alarmin olarak işlev gören hücre dışı matriks fragmanları arasında fragmente agrekan, fibronektin, biglikan, decorin ve düşük moleküler ağırlıklı hyaluronik asit bulunur. Alarminler ve hücre dışı yüksek mobilite grubu kutusu 1 (HMGB1) de TLR'leri aktive eder ve muhtemelen disk dejenerasyonunda bir alarm işlevi görür (96, 97).

İnsan disk hücreleri TLR 1-6, 9 ve 10'u eksprese eder ve TLR 1, 2, 4 ve 6'nın dejenerasyon derecesine göre arttıkları belirtilmiştir. İnsan NP veya AF hücrelerinde TLR2 aktivasyonu, disk dejenerasyonu ile ilişkili NF- κ B, p38 ve ERK sinyalini aktive eder (98). Ayrıca TLR4 aktivasyonunun, in vivo olarak proinflamatuvar bir ileri besleme döngüsü oluşturduğu ve in vitro disk dejenerasyonunun temel bileşenlerini (proteazlar, sitokinler ve nörotrofinler) arttırdığı düşünülmektedir. Bu nedenle TLR'ler muhtemelen disk dejenerasyonunda ve kronik bel ağrısında önemli rol oynamaktadırlar (99).

Fizyolojik ve patolojik matriks degradasyonu sırasında ECM fragmanı ve alarminler nedeniyle, TLR'ler; dejenerasyonun erken aşamalarında potansiyel olarak aktive olmaktadır. Bununla birlikte, TLR aktivasyonunun insan disklerinde dejeneratif değişikliklere neden olmak için yeterli olup olmadığı hala net olarak ortaya konulamamıştır. Ayrıca, TLR2, disk dejenerasyonunda bulunan iki güçlü nosiseptif faktör olan sinir büyüme faktörü ve beyin kaynaklı nörotrofik faktörü düzenlemektedir (100).

Krock ve ark tarafından fare modelinde yapılan çalışmada, TLR inhibisyonunun, proinflamatuvar sitokin sekresyonunu azalttığı ve buna sekonder disk dejenerasyonunun ve kronik sırt ağrısının azaldığı bildirilmiştir (101).

Aynı ekibin bir başka çalışmasında, bir ex vivo organ kültürü sisteminde dejenerasyon olmayan insan disklerine spesifik sentetik TLR2 ve TLR4agonistlerinin enjeksiyonu sonrası, TLR aktivasyonunun NP dokusunda dejeneratif değişikliklere neden olduğunu, spesifik ECM bileşenlerinin ve proteazların salınımını arttırdığını ve steril enflamasyonu arttırdığını tespit etmişlerdir (102). Birlikte ele alındığında, TLR'lerin, disk dejenerasyonunu yavaşlatabilen ve kronik bel ağrısını azaltabilen potansiyel hastalık modifiye edici terapötik hedefler olduğu öne sürülmüştür.

Bir başka çalışmada, çok sayıda sitokin (IL-1 β , IL-6, TNF- α , HMGB1 ve makrofaj göçü inhibe edici faktörün ekspresyonlarını uyarmak için ve enflasyonu aktive etmek için LPS kullanılmıştır (103). LPS, prelinik inflamasyon modellerinde yaygın olarak kullanılmasının yanında ve doğal immünitede aktive edici etkisini TLR4'e bağlanarak göstermektedir. Sıçan kaudal İVD'sinde intradiskal LPS enjeksiyonu ile indüklenen erken inflamatuvar ve morfolojik değişiklikler incelenmiştir. TLR4 aktivasyonu ile inflamatuvar bir kaskadın uyarılmasına sekonder, İVD hücrelerinde ECM ekspresyonunun doza bağlı bir şekilde anlamlı şekilde inhibe olduğu saptanmıştır. TLR4 ekspresyonunun TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ekspresyonunda ve NO üretiminde belirgin artışlara neden olduğu da ortaya konmuştur. Böylelikle LPS enjeksiyonu sonrası TLR4 aktivasyonu ile sıçan İVD'sinde orta derecede dejeneratif değişiklikler olduğu gösterilmiştir (104).

İnsan immün sisteminde TLR4/MyD88 bağımlı yolağın önemli rolü olduğu düşünülmektedir. MyD88, çoğu TLR ve interlökin-1 reseptörü (IL-1R) için anahtar bir sinyal iletilici adaptör proteindir. Bu sebeple, otozomal resesif IRAK -4 ve MyD 88 eksikliği, TLR ve IL-1R aracılı immüniteyi bozar. MyD88 eksikliği olan çocukların bakteriyel enfeksiyonlara daha duyarlı olduğu ve farklı mutasyonların tespit edildiği literatürde gösterilmiştir (105).

Farelerde MyD88 eksikliği, deneysel enfeksiyon ortamlarında çok çeşitli patojenlere karşı duyarlılığa sebep olmaktadır. Von Bernuth ve ark. MyD88 eksikliğinin TLR stimülasyonuna bozulmuş sitokin yanıtı ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Bir başka çalışma; IRAK-4 ve MyD88 eksikliği durumlarında, özellikle bebeklik ve erken çocukluk döneminde, tekrarlayan-yaşamı tehdit eden invazif pnömokok ve çeşitli bakteriyel patojenlere karşı, yeterli inflamatuvar yanıtın gösterilemediğini ortaya koymuştur (106).

Bununla birlikte, İVD dejenerasyonunda NP hücrelerinde TLR4'ü aktive eden MyD88'e bağımlı veya bağımsız sinyal transdüksiyon yolu, bu sinyal transdüksiyon yolağının doğası hala bilinmemektedir. İVD dejenerasyonundaki TLR4 sinyal yolunun MyD88'e bağlı veya bağımsız olup olmadığını belirlemek, MyD88'e bağımlı TLR4 sinyal yolunun İVD dejenerasyonunun altında yatan hedef yol olduğu hipotezini destekleyen kanıtlar oluşturabilecektir. Son çalışmalarda, LPS / TLR4 sinyal yolunun mekanizmaları kısmen açıklanmış ve bu anlayış, ilave TLR4 sinyal yollarının düzenlemesini modellemek için uygulanabilir hale gelmiştir (107, 108).

Qin ve ark. yaptığı çalışmada; sıçan İVD'lerine artan konsantrasyonlarda LPS ile uyarım yapılmasına karşı oluşan enflamatuar cevap ölçülmüş olup, LPS dozu arttıkça, TLR4 ve MyD88 cevabında anlamlı artış olduğu saptanmış ve disk dejenerasyonunda MyD88 bağımlı yolağın ana rolü üstlendiği düşünülmüştür. Bu bulguların, dejeneratif disk hastalığında MyD88'e bağımlı TLR4 sinyal yolunun inhibisyonunun potansiyel bir terapötik faydası olabileceğinden bahsedilmiştir (109).

Ancak hayvanlarda, diskte bıçak veya laserasyon yolu ile lezyon oluşturulmasına sekonder gelişen dejenerasyon modelleri, genel olarak İVD'de morfolojik değişiklikleri meydana getirmektedir. Bu hayvan modelleri ayrıca proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunda ki geçici artışlarla da ilişkilendirilmiştir fakat bu modelleme insan dejeneratif disk hastalıklarında gözlenenden farklıdır. İnsanlarda klinik disk dejenerasyonu, enflamatuar mediatörlerin dejeneratif etiyojide kritik rol oynadığı kronik olarak yükselmiş çoklu proinflamatuar sitokin seviyeleri ile ilişkilidir (110, 111).

Birçok çalışmada, eklem kıkırdağındaki osteoartrit gelişiminde MyD88'in önemli bir rol üstlendiği belirtilmiştir. Ancak yukarıda da bahsettiğimiz gibi İVD dejenerasyonunda MyD88 bağımlı yolağın rolü net şekilde gösterilememiştir. Bu konu üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise; in vitro teknikler kullanılarak, MyD88 yolağına özgü inhibisyonun, sığır ve insan NP hücrelerindeki güçlü enflamatuar ve katabolik mediatör LPS ve IL-1, MMP'ler de dahil olmak üzere matriks parçalayıcı enzim ekspresyonu ve trombospondin motifleri (ADAMTS familyası), enzim ekspresyonunu değerlendirilerek analiz edilmiştir (112). Ayrıca, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve TLR-2'nin düzenlenmesinde MyD88'in inhibisyonunun rolü analiz edilmiş ve son olarak, MyD88 inhibitörünün (MyD88i) fare lomber disklerinde katabolik faktör kaynaklı disk dejenerasyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için ex vivo organ kültür modeli kullanılmıştır (113).

MyD88 yolu inhibisyonunun (LPS veya IL-1 aracılı kıkırdak bozunduruucu enzim indüksiyonunu kuvvetle antagonize eder) İVD homeostazı üzerindeki güçlü anti-enflamatuar ve anti-katabolik etkileri ortaya koyulmuş, ve bu durumun gelecekte MyD88i'nin dejeneratif disk hastalığında potansiyel bir terapötik faydası olabileceğini göstermektedir. TLR'lerin, ligand bağlanması ve eklem kıkırdağındaki bilinen biyolojik etkilerine dayanarak omurga diski dejenerasyonu ve bel ağrısı patogeneğinde özel bir öneme sahip olabileceğini varsayılmıştır (114, 115).

Ayrıca; gram negatif bakterilerin hücre zarının ana bileşeni olan ve yeni antimikrobiyal ajanların gelişimi için önemli bir hedef olan LPS, in vivo olarak septik şok dahil olmak üzere çeşitli hücre tepkilerini indüklemektedir. LPS'in artiküler eklem enjeksiyonu sonrası sinovit ve kemik / kıkırdak yıkımına neden olacak enflamatuar yanıtı aktive ederek artrit gelişiminde potansiyel rolü olduğuda bildirilmiştir. Bu nedenle, bir LPS karşıtı ilacın (yani, MyD88i) geliştirilmesi, istenmeyen bakterilere karşı mücadelede ve disk-eklem dejenerasyonunda potansiyel immünolojik faydalar sunabilmektedir (116).

TLR' nin bu enflamatuar süreci tetiklemesinde, MyD88 bağımlı ve bağımsız olmak üzere 2 ana yolak üzerinden etkileri olduğundan bahsetmiştik. Bu yolların inhibisyonu üzerine güncel literatürde çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bir çalışmada; anti-enflamatuar etkilere sahip bir fitoaleksinin olan resveratrol üzerinden bu yollar değerlendirilmeye çalışılmıştır. Resveratrolün, NF- κ B aktivasyonunu ve hedef gen ekspresyonunun baskılanmasına yol açan diğer sinyal yollarını inhibe ettiğini gösterilmiştir. Bununla birlikte, resveratrol'ün doğrudan hedefleri belirlenmemiştir (117).

Resveratrolün, TLR3 ve TLR4 stimülasyonunu takiben RAW264.7 hücrelerinde NF- κ B aktivasyonunu ve siklooksijenaz-2 ekspresyonunu baskıladığı, ancak TLR2 veya TLR9'u baskılamadığı ayrıca TRIF tarafından uyarılan NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederken, fakat MyD88 tarafından uyarılan NF- κ B aktivasyonunu ise inhibe etmemiştir. Resveratrolün LPS kaynaklı NF- κ B aktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi, TRIF eksikliği olan fare embriyonik fibroblastlarında görülmezken, LPS kaynaklı I κ Ba'nın bozulması, siklooksijenaz-2 ve indüklenebilir NO sentaz ekspresyonu ise MyD88-eksik makrofajlarda görülmüştür. MyD88-IKK β yolu ile aktive edilen NF- κ B aktivasyonunu da inhibe etmediği gösterilmiştir. Sonuç olarak; resveratrol'ün TRIF'ye bağımlı sinyal yollarını inhibe ederken, MyD88'e bağımlı yolları inhibe etmediği bildirilmiştir (117, 118).

İnsan İVD hücrelerinde TLR'lerin ekspresyonunu ve düzenlenmesini kapsamlı bir şekilde gösterildiği ender çalışmalardan birinde; proinflamatuar sitokinlerinden IL-1b ve TNF-a'nın TLR2 genini ve protein ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir. Fakat bununla birlikte, IL-1b ve TNF-a'nın TLR2' den bağımsız şekilde NF- κ B transkripsiyon faktörünü aktive ettiği (p65'in nükleer translokasyonu ile) gösterilmiştir. Sonuç olarak TLR4'ün disk dejenerasyonu üzerine etkisi hakkında somut bir veri elde edilememiş ve TLR2 'nin de enflamasyondaki rolü literatürdeki bilgi birikimine dayanarak yorumlanmıştır. TLR-ligand

etkileşiminin, in vitro ve in vivo olarak İVD hücrelerinde NF-κB ve MAPK'nın aktivasyonuna yol açtığı ifade edilmiştir (119).

İntervertebral diskin dejenerasyonu sırt / boyun ve radiküler ağrının en büyük sebebidir. Disk hücreleri ve infiltre olmuş immünoisitlerin yanı sıra nörotrofin reseptörleri ve bunların modülatörleri tarafından üretilen enflamatuar sitokinler ve nörotrofinler arasındaki etkileşim bu süreci yönlendirebildiği literatürde gösterilmiştir. Enflamatuar kaskatta önemli rolleri olduğu düşünülen TLR/Myd88 bağımlı yolağın dolaylı yoldan ağrıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu sebeple inflammatuar sürecin anlaşılması klinikte hastaların semptomatolojisinin anlaşılabilmesini kolaylaştıracaktır. Sonuç olarak; inflammatuar sitokinler, nörotrofinler ve nosisepsiyon arasında doğrudan bir bağlantı olduğu gösterilmiştir (120).

Modic dejenerasyonlar vertebra end platelerinde ve komşu kemik iliğinde MRG'de saptanabilen yaygın anormallikler arasındadır. Klinikte ise bel ağrısı semptomu ile güçlü bir ilişki içerisinde olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, MD'lerin genel patogenezi ise halen tartışılan konular arasında yer almaktadır. End platelerdeki kronik tekrarlayan kesme kuvvetleri, lokal bozulmalara ve mikrofraktürlere neden olmaktadır. Buna sekonder görülen, AF ve NP' deki dejeneratif değişikliklerin, end platelerde otoimmün cevabın oluşumuna ve sitokin üretiminin artmasına sebep olduğu düşünülmekte ve ağrı olan ilişkisi açıklanmaya çalışılmaktadır. Altta yatan bu etiyolojik yolun kanıtlanması halinde, MD'ler ve bunun sonucunda görülen bel ağrısının yeni klinik yöntemlerle tedavi edilebileceği literatürde vurgulanmaktadır (121, 122, 123).

Albert ve ark. MD'lerin, intervertebral disk çevresinde biyomekanik olarak indüklenen inflamasyonun sonucu olduğunu varsayarken, Kjaer ve ark. benzer bir görüş bildirmiş ve MD'lerin bel ağrısı vakalarında disk etrafındaki dejeneratif süreç sonucu oluştuğunu belirtmiştir (124, 125).

Bugüne kadar, literatürde, mevcut potansiyel patolojik mekanizmaları doğrulamak için herhangi bir hayvan modeli geliştirilmemiştir. MD'ler ve bel ağrısı arasındaki ilişki bildirilen mevcut hipotezlere karşı belirsizliğini korumakla birlikte birçok yazar, Tip I MD'lerin ağrı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ancak literatürde farklı görüşlerde mevcuttur. TNF-a, IL-1, yüksek duyarlı C-reaktif protein, IL-6, IL-8, prostaglandin E, ve protein gen ürünü gibi çok sayıda enflamatuar faktörün bel ağrısı ile

ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu kanıt, herniye NP'den elde edilen immün fonksiyonun, MD'lerin altında yatan patolojiyi teşkil edebileceği hipotezini desteklemektedir (126).

Artan vasküler yoğunluğun eşlik ettiği end plate laserasyonları ve disk materyallerinde ki biyolojik reaksiyonlar, İVD dejenerasyonunun erken aşamalarında inflamatuvar bir reaksiyona neden olabilmekte ve bel ağrısını daha da indükleyebilmektedir. Fayad ve ark. bu hipotezden yola çıkarak kronik bel ağrısı olan ve ağırlıklı olarak Tip I MD'leri olan hastaların intradiskal steroid enjeksiyonlarını takiben semptomlarında kısa vadeli bir rahatlama olduğunu göstermişlerdir. Ek olarak Albert ve ark. tarafından, MD'lerin *Propionibacterium acnes* gibi anaerobik bakterilerle oluşan enfeksiyona bağlı olabileceğini bildirilmiştir (127, 128).

Yapılan bir başka çalışmada, MD'lerin tipleri ile ağrı arasında fark saptanmazken, lomber bölgede oluşan MD'lerin ise diğer lokasyonlara göre ağrı ile daha ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca MD'ye sahip olgularda, olmayan olgulara göre bel ağrısı semptomatolojisinin ve eşlik eden radiküler ağrının normal popülasyona göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ohtori ve ark. diskojenik bel ağrısı olan hastalardan alınan vertebral end plate histolojilerini karşılaştırmış ve MD olan end platerlerde normale göre inflamatuvar yanıtta ve akson büyümesinde artış olduğu gösterilmiştir (129, 130).

MD'lerdeki inflamatuvar süreç ve ve bunun kliniğe olan yansımalarını net olarak gösteren bir çalışma olmamasının yanında, Güney Çin'de genel MD prevalansı 5.8%, Avrupa'da 19% ve Kuzey Amerika'da ise 9% olması, MD'nin çok sık görülen bir tablo olmamasını göstermekte ve özellikle yüksek hasta sayısı ile yapılan çalışmaların daha değerli olduğu vurgulanmaktadır. Moleküler tanı tekniklerinin gelişimi ile birlikte, son yıllarda hem dejeneratif hem de enfeksiyöz hastalıkları teşhis etme ve tedavi etme konusundaki ilerlemeler yüz güldürücü olmakla MD'lerin moleküler temeli üzerinde çok az yayın yapılmasında ek bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (131, 132).

Chen ve ark. yaptığı çalışmada ise literatürdeki eğilimin aksine özellikle MD tip 2 de belirgin şekilde IL-1, GM-CSF, ENA-78 ve TNF- α düzeylerinde artış olduğu bildirilmiştir. Böylelikle, hem IL-1 β hem de TNF-a'nın bel ağrısıyla yüksek düzeyde ilişkili olduğu ifade edilmiştir (133).

MD tip 1 ve tip 2 hastalarında dismyelopoezi ve kemik iliğinde fibrotik değişiklikler persistan inflamatuvar stimulus varlığını göstermektedir. Bu kalıcı uyaran muhtemelen komşu “intervertebral diskten” kaynaklanmaktadır, çünkü MD'ler genellikle disk dejenerasyonuna komşu olarak meydana gelmektedirler ve bu değişikliğin dejenerasyonun şiddetiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Tüm MD'lerin birbirine dönüşebiliyor olması ve mikst tipin mevcut olması (MD tip 1 / 2 ve MD tip 2 / 3), farklı MD tiplerinin aynı patolojik sürecin farklı aşamalarını temsil ettiğini düşündürmektedir (134).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada; MD ile IL1R / TLR / MyD88 yolunun ilişkisi gösterilmeye çalışılmış ve proinflamatuvar sitokinlerin IL-1, IL-6 ve TNF'nin ekspresyonuna yol açan TRAF6 / NFκB1 yolunun aktive olduğu ve bu yolun tetikleyicisinde TLR olduğu hipotezi kurulmuştur (135).

Bir başka çalışmada ise; MD tip 1 veya tip 2 değişiklik gösteren hastalar opere edilmiş, MD tip 2 disklerinde pro-osteoklastik değişiklikler, MD tip 1 ve MD tip 2 kemik iliğinde fibrojenik değişiklikler gösteren inflamatuvar bir dismyelopoezis ve MD tip 1 ve MD tip 2 kemik iliği ve disklerinde nörotrofik reseptörlerin regülasyonunu gözlemlendiği bildirilmiştir (136, 137).

Bir önceki basamak olan proinflamatuvar sitokinlerin dejenere disklerde ki artışı, kliniğimizde yapılan başka bir çalışma ile gösterilmişti. Literatürde, özellikle son yıllarda nöroşirurji alanında dejeneratif disk hastalığı ve immünite konusunda oldukça fazla sayıda çalışma yapılmıştır. Dejeneratif disk hastalığında görülen inflamasyonda “innate immün sistemin” rolünü tam olarak değerlendirecek ve saptayacak çalışmalar oldukça yetersiz olup, çalışmalar genellikle hayvan modellerinde ve proinflamatuvar sitokinler üzerinden gerçekleştirilmiştir.

İmmün sistemin rolünün saptanması yanında, özellikle nöroşirurji pratiğinde hasta değerlendirmede oldukça sık başvurulan görüntüleme modalitesi olan MRG ile immün sistemin korelasyonu ise hiç çalışılmamıştır. Dejeneratif disk hastalığı mevcut hastalarda, MRG'de sıkça saptanan modic değişikliklerin nasıl ve neden oluştuğu ise bilinmezliğini korurken, bu değişikliklerin özellikle bel ağrısı ile çok güçlü bir ilişki içinde olduğu ise çeşitli yazarlar tarafından bildirilmiştir (138). Modic değişikliklerin İVD dejenerasyonunda görülen enflamatuvar süreç ve bu süreçte rol olan immün yollarla ilişkisini saptamak oldukça önemli hale gelmiştir.

Çalışmamızda, ‘‘innate immün sistemin’’ ana elemanları arasında yer alan TLR’ ler ve bunların MyD 88 bağımlı yolakla ilişkisi incelenmiştir. TLR/MyD 88 bağımlı yolakta bulunan IKKA, NF-KBA ve TRAF6 ‘ nın modic tip dejenerasyon ile ilişkisi değerlendirildiğinde; tamamında Modic Tip 1 dejenerasyon değerleri, $p<0.001(***)$ anlamlılık düzeyinde Modic Tip 2 ve Modic Tip 3 dejenerasyon değerlerinden istatistiksel analiz olarak farklı bulunmuştur. Ayrıca TLR4, MyD88, IKKA ve TRAF6’ nın Modic Tip 2 dejenerasyon değerleri, $p<0.001(***)$ anlamlılık düzeyinde Modic Tip 3 dejenerasyon değerlerinden istatistiksel analiz olarak farklı bulunmuştur.

Tüm markerlarda en yüksek değerlerin Modic Tip 1 dejenerasyonda olması dikkati çekmiştir. Bu değerler ile birlikte Modic dejenerasyonda bu yolağın aktif rol oynadığı ve ana yollardan biri olduğu literatürden farklı olarak net şekilde ortaya konmuştur. Ayrıca hangi tipte enflamasyonun daha fazla olduğuna dair literatürde mevcut olan karşıt bilgilere rağmen, çalışmamızda net bir şekilde en enflamatuvar fazın Modic Tip 1 fazı olduğunu ortaya çıkmıştır. Bu yolağın inhibisyonu ile Modic dejenerasyonunu geriletmek mümkün olacağı düşünülmekte ve özellikle bel ağrısı kliniğinde fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

İmmunolojik reaksiyonlar sonrası, dejenere disk dokusuna sekonder meydana gelen bel ağrısı bahsettiğimiz gibi literatürde üzerine değinilmiş bir konu olmakla birlikte ağrının, TLR ler üzerine etkisi hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Özellikle enflamasyon arttıkça ağrının artacağı yönünde yorumlar yapılmıştır. O halde bariz kök basısı olan dejenere disklerde enflamasyonun daha fazla olduğunu ve bu hastalarda bel ağrısına eşlik eden radiküler ağrının da bu enflamatuvar durumla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda ise bel ağrısı ile eşlik eden radiküler ağrı olan durumlarda TLRlerde ve MyD88 adaptör protein bağımlı yolakta, iki grup arasında istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmamıştır. Bu da ağrı oluşumunda, enflamasyon harici faktörlerin daha baskın rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, literatürde sıkça Modic dejenerasyonu ve eşlik eden bel ağrısı hakkında kuvvetli ilişki olduğundan bahsedilmiş ancak çalışmamızda anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmamızın üçüncü ayağı olan ve kullanılan ilaçlar ile TLR4/MyD 88 bağımlı yolak değerlendirildiğinde ise sadece MyD88’de NSAİİ kullanan grupta kullanmayan gruba göre $p<0.05(*)$ anlamlılık düzeyinde istatistiksel analiz olarak fark saptanmıştır. Bu da NSAİİ

ilaçlarla, hastaların ağrılarında oluşan rahatlamaı açıklayan sebep olarak yorumlanmıştır. Sadece MyD88 de anlamlı fark saptanması ise bu inflamatuvar süreçte ana molekülün MyD88 göstermektedir.

14. SONUÇ

MRG' de Modic dejenerasyon saptanan 88 erkek hastanın mikrodiskektomi esnasında alınan disk materyallerinin değerlendirildiği bu çalışma daha önce literatürde gösterilmemiş veya tartışmalı bir şekilde bildirilmiş yorumları, literatürün aksine net şekilde ortaya koymaktadır. Özellikle "innate immün sistemin" disk dejenerasyonundaki rolünün ve bunun Modic dejenerasyon ile olan korelasyonunun anlaşılması, gelecekte hastaların yönetimine ve tedavi sürecine dair ciddi gelişmeler sağlayacaktır.

15. KAYNAKLAR

1. Adams MA, Roughley PJ: What is intervertebral disc degeneration, and what causes it? *Spine (Phila Pa 1976)* 31(18):2151-2161, 2006
2. Adams MA, Mannion AF, Dolan P: Personal risk factors for first-time low back pain. *Spine (Phila Pa 1976)* 24(23):2497- 2505, 1999
3. Buckwalter JA: Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 20(11):1307-1314, 1995
4. Adams MA, Freeman BJ, Morrison HP, Nelson IW, Dolan P: Mechanical initiation of intervertebral disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 25(13):1625-1636, 2000
5. Wiltse LL: The history of spinal disordersin: Frymoyer JW (ed): *The adult spine. Principles and practice.* Lippincott-Raven, Philadelphia, Pp 3-40, 1997
6. Shakespeare W: *Timon of Athens*, Act 4, Scene 1, Line 23
7. Yaşargil MG: Microsurgical operation of herniated lumbar disc. *Adv Neurosurg* 4: 81, 1977
8. Alberstone CD, Benzel EC: History. In: Benzel EC (ed): *Spine Surgery: Techniques, Complication Avoidance and Management.* Churchile Livingstone. New York, Pp 1-21, 1999
9. Sonntag VKH: History of spinal disorders. In: Menezes AH and Sonntag VKH (ed.s): *Principles of spinal surgery.* McGraw-Hill, New York, Pp 3-23, 1996
10. Twomey LT, Taylor JR. Age changes in lumbar vertebrae and intervertebral discs. *Clin Orthop.* 1987; 224: 97– 104.
11. Roberts S, Menage J, Urban JPG. Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine.* 1989; 14: 166– 174.
12. Yu J, Winlove CP, Roberts S, Urban JP. Elastic fibre organization in the intervertebral discs of the bovine tail. *J Anat.* 2002; 201: 465– 475
13. Inoue H. Three-dimensional architecture of lumbar intervertebral discs. *Spine.* 1981; 6: 139– 146.
14. Maroudas A, Nachemson A, Stockwell R, Urban J. Some factors involved in the nutrition of the intervertebral disc. *J Anat.* 1975; 120: 113– 130.

15. Marchand F, Ahmed AM. Investigation of the laminate structure of lumbar disc annulus fibrosus. *Spine*. 1990; 15: 402– 410.
16. Errington RJ, Puustjarvi K, White IR, Roberts S, Urban JP. Characterisation of cytoplasm-filled processes in cells of the intervertebral disc. *J Anat*. 1998; 192: 369– 378.
17. Bruehlmann SB, Rattner JB, Matyas JR, Duncan NA. Regional variations in the cellular matrix of the annulus fibrosus of the intervertebral disc. *J Anat*. 2002; 201: 159– 171.
18. Roberts S, Eisenstein SM, Menage J, Evans EH, Ashton IK. Mechanoreceptors in intervertebral discs. Morphology, distribution, and neuropeptides. *Spine*. 1995; 20: 2645– 2651.
19. Crock HV, Goldwasser M, Yoshizawa H. Vascular anatomy related to the intervertebral disc. In: P Ghosh, ed. *Biology of the Intervertebral Disc*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1991: 109– 133.
20. Johnson WE, Evans H, Menage J, Eisenstein SM, El Haj A, Roberts S. Immunohistochemical detection of Schwann cells in innervated and vascularized human intervertebral discs. *Spine*. 2001; 26: 2550– 2557.
21. Wang Y, Videman T, Battie MC. ISSLS prize winner: lumbarvertebral endplate lesions: associations with disc degeneration and back pain history. *Spine (Phila Pa 1976)*2012; 37(17):1490-6.
22. Lama P, Le Maitre CL, Dolan P, Tarlton JF, Harding IJ, Adams MA. Do intervertebral discs degenerate before theyherniate, or after? *Bone Joint J* 2013;95-B(8):1127-33.
23. Chen S, Liao M, Li J, Peng H, Xiong M. The correlation betweenmicrovessel pathological changes of the endplate anddegeneration of the intervertebral disc in diabetic rats. *ExpTher Med* 2013;5(3):711-7.
24. Vergroesen P-PA, van der Veen AJ, van Royen BJ, Kingma I,Smit TH. Intradiscal pressure depends on recent loading andcorrelates with disc height and compressive stiffness. *Eur Spine J* 2014;23(11):2359-68.
25. Weiler C, Schietzsch M, Kirchner T, Nerlich AG, Boos N,Wuertz K. Age-related changes in human cervical, thoracaland lumbar intervertebral disc exhibit a strong intra-indi-vidual correlation. *Eur Spine J* 2012;21(Suppl 6):S810-8.

26. Guehring T, Omlor GW, Lorenz H, Engelleiter K, Richter W, Carstens C, Kroeber M. Disc distraction shows evidence of regenerative potential in degenerated intervertebral discs as evaluated by protein expression, magnetic resonance imaging, and messenger ribonucleic acid expression analysis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2006 Jul 1;31(15):1658-65.
27. Iatridis JC, Gwynn IAP. Mechanisms for mechanical damage in the intervertebral disc annulus fibrosus. *J Biomech* 2004;37(8):1165-75.
28. Sørensen LT, Jørgensen S, Petersen LJ, Hemmingsen U, Bülow J, Loft S, et al. Acute effects of nicotine and smoking on blood flow, tissue oxygen, and aerobic metabolism of the skin and subcutis. *J Surg Res* 2009;152(2):224-30.
29. Han B, Zhu K, Li F-C, Xiao Y-X, Feng J, Shi Z-L, et al. A simple disc degeneration model induced by percutaneous needle puncture in the rat tail. *Spine (Phila Pa 1976)* 2008;33(18):1925-34.
30. Neidlinger-Wilke C, Mietsch A, Rinkler C, Wilke H-J, Ignatius A, Urban J. Interactions of environmental conditions and mechanical loads have influence on matrix turnover by nucleus pulposus cells. *J Orthop Res* 2012;30(1):112-21.
31. Pollintine P, Przybyla AS, Dolan P, Adams MA. Neural arch load-bearing in old and degenerated spines. *J Biomech* 2004;37(2):197-204.
32. Quero L, Klawitter M, Schmaus A, Rothley M, Sleeman J, Tiaden AN, et al. Hyaluronic acid fragments enhance the inflammatory and catabolic response in human intervertebral disc cells through modulation of toll-like receptor 2 signaling pathways. *Arthritis Res Ther* 2013;15(4):R94.
33. Yurube T, Takada T, Suzuki T, Kakutani K, Maeno K, Doita M, et al. Rat tail static compression model mimics extracellular matrix metabolic imbalances of matrix metalloproteinases, aggrecanases, and tissue inhibitors of metalloproteinases in intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther* 2012;14(2):R51
34. Wuertz K, Urban JPG, Klasen J, Ignatius A, Wilke H-J, Claes L, et al. Influence of extracellular osmolarity and mechanical stimulation on gene expression of intervertebral disc cells. *J Orthop Res* 2007;25(11):1513-22.
35. Richardson SM, Doyle P, Minogue BM, Gnanalingham K, Hoyland JA. Increased expression of matrix metalloproteinase-10, nerve growth factor and substance P in the painful degenerate intervertebral disc. *Arthritis Res Ther* 2009;11(4):R126

36. Liu GZ, Ishihara H, Osada R, Kimura T, Tsuji H. Nitric oxide mediates the change of proteoglycan synthesis in the human lumbar intervertebral disc in response to hydrostatic pressure. *Spine*. 2001; 26(2): 134– 141.
37. Iatridis JC, Nicoll SB, Michalek AJ, Walter BA, Gupta MS. Role of biomechanics in intervertebral disc degeneration and regenerative therapies: what needs repairing in the disc and what are promising biomaterials for its repair? *Spine J* 2013;13(3): 243-62.
38. Kroeber MW, Unglaub F, Wang H, Schmid C, Thomsen M, Nerlich A, et al. New in vivo animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002;27(23):2684-90.
39. Lotz JC, Staples A, Walsh A, Hsieh AH. Mechanobiology in intervertebral disc degeneration and regeneration. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf* 2004;7:5459.
40. Lotz JC, Fields AJ, Liebenberg EC. The role of the vertebral end plate in low back pain. *Glob Spine J* 2013;3(3):153-64.
41. Panjabi MM. Clinical spinal instability and low back pain. *J Electromyogr Kinesiol* 2003;13(4):371-9.
42. Bakker EWP, Verhagen AP, van Trijffel E, Lucas C, Koes BW. Spinal mechanical load as a risk factor for low back pain: a systematic review of prospective cohort studies. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009;34(8):E281-93.
43. V Sayson J, Hargens AR. Pathophysiology of low back pain during exposure to microgravity. *Aviat Space Environ Med* 2008;79(4):365-73.
44. Venner RM, Crock HV. Clinical studies of isolated disc resorption in the lumbar spine. *J Bone Joint Surg Br*. 1981;63B(4):491-4.
45. Ohtori S, Yamashita M, Yamauchi K, Inoue G, Koshi T, Suzuki M, et al. Low back pain after lumbar discectomy in patients showing endplate modic type 1 change. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010 Jun 1;35(13):E596-600.
46. Purmessur D, Walter BA, Roughley PJ, Laudier DM, Hecht AC, Iatridis J. A role for TNF α in intervertebral disc degeneration: a non-recoverable catabolic shift. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;433(1):151-6.

47. Pezet S, and McMahon S. B. Neurotrophins: mediators and modulators of pain. *Annu. Rev. Neurosci.* 2006; 29, 507–538
48. Akhatib B, Onnerfjord P, Gawri R, Ouellet J, Jarzem P, Heinegård D, et al. Chondroadherin fragmentation mediated by the protease HTRA1 distinguishes human intervertebral disc degeneration from normal aging. *J. Biol. Chem.* 2013; 288, 19280–19287.
49. Chen ZH, Jin SH, Wang MY, Jin XL, Lv C, Deng YF, et al. Enhanced NLRP3, caspase-1, and IL-1 β levels in degenerate human intervertebral disc and their association with the grades of disc degeneration. *Anat Rec (Hoboken)*. 2015 Apr;298(4): 720-6.
50. Coenen P, Kingma I, Boot CRL, Bongers PM, van Dieën JH. Cumulative mechanical low-back load at work is a determinant of low-back pain. *Occup Environ Med* 2014;71(5): 332-7.
51. Lv B, Yuan J, Ding H, Wan B, Jiang Q, Luo Y, et al. Relationship between Endplate Defects, Modic Change, Disc Degeneration, and Facet Joint Degeneration in Patients with Low Back Pain. *Biomed Res Int.* 2019 Jul 11;2019:9369853.
52. O'Sullivan K, O'Keeffe M, Forster BB, Qamar SR, van der Westhuizen A, O'Sullivan PB. Managing low back pain in active adolescents. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2019 Feb;33(1):102-121.
53. Kaiser J, Allaire B, Fein PM, Lu D, Jarraya M, Guermazi A, et al. Correspondence between bone mineral density and intervertebral disc degeneration across age and sex. *Arch Osteoporos.* 2018 Nov 12;13(1):123.
54. Urrutia J, Besa P, Lobos D, Campos M, Arrieta C, Andia M, et al. Lumbar paraspinal muscle fat infiltration is independently associated with sex, age, and inter-vertebral disc degeneration in symptomatic patients. *Skeletal Radiol.* 2018 Jul;47(7):955-961.
55. Brinjikji W, Diehn FE, Jarvik JG, Carr CM, Kallmes DF, Murad MH, et al. MRI Findings of Disc Degeneration are More Prevalent in Adults with Low Back Pain than in Asymptomatic Controls: A Systematic Review and Meta-Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2015 Dec;36(12):2394-9.
56. Rahme R, Moussa R. The Modic Vertebral Endplate and Marrow Changes: Pathologic Significance and Relation to Low Back Pain and Segmental Instability of the Lumbar Spine. *AJNR Am J Neuroradiol.* May 2008, 29 (5) 838-842

57. Modic MT, Steinberg PM, Ross JS, et al. Degenerative disk disease: assessment of changes in vertebral body marrow with MR imaging. *Radiology*. 1988;166:193–199.
58. Thompson KJ, Dagher AP, Eckel TS, et al. Modic changes on MR images as studied with provocative diskography: clinical relevance—a retrospective study of 2457 disks. *Radiology*. 2009;250:849–855.
59. Dudli S, Fields AJ, Samartzis D, Karppinen J, Lotz JC. Pathobiology of Modic changes. *Eur Spine J*. 2016 Nov; 25(11): 3723–3734.
60. Jensen RK, Leboeuf-Yde C. Is the presence of Modic changes associated with the outcomes of different treatments? A systematic critical review. *BMC Musculoskeletal Disord*. 2011;12: 183.
61. Karppinen J, Solovieva S, Luoma K, et al. Modic changes and interleukin 1 gene locus polymorphisms in occupational cohort of middle-aged men. *Eur Spine J*. 2009;18: 1963–1970.
62. Wang Y, Videman T, Battié MC. Modic changes: prevalence, distribution patterns, and association with age in white men. *Spine J*. 2012;12: 411–416.
63. B.A. Beutler. TLRs and innate immunity. *Blood* 113 (2009) 1399–1407.
64. C.A. Janeway Jr., R. Medzhitov. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20 (2002) 197–216.
65. S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124 (2006) 783–801.
66. R. Medzhitov, Recognition of microorganisms and activation of the immune response, *Nature* 449 (2007) 819–826.
67. C. Pasare, R. Medzhitov. Toll-like receptors and acquired immunity. *Semin. Immunol.* 16 (2004) 23–26.
68. M.S. Jin, J.O. Lee. Structures of the Toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity* 29 (2008) 182–191.
69. B.S. Park, D.H. Song, H.M. Kim, B.S. Choi, H. Lee, J.O. Lee. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4–MD-2 complex, *Nature* 458 (2009) 1191–1195.
70. Y.M. Kim, M.M. Brinkmann, M.E. Paquet, H.L. Ploegh, UNC93B1 delivers nucleotide-sensing Toll-like receptors to endolysosomes, *Nature* 452 (2008) 234–238.

71. Kenny E.F. , Talbot S, Gong M, Golenbock D.T. , Bryant C.E. , O'Neill L.A. MyD88 adaptor-like is not essential for TLR2 signaling and inhibits signaling by TLR3. *J Immunol* (2009) 183; 3642-3651.
72. Bryant CE, Gay NJ, Heymans S, Sacre S, Schaefer L, Midwood KS. Advances in toll-like receptor biology: modes of activation by diverse stimuli. *Crit Rev Biochem Mol Biol* (2015) 50: 359–79.
73. Baccala R, Gonzalez-Quintial R, Lawson BR, Stern ME, Kono DH, Beutler B, et al. Sensors of the innate immune system: their mode of action. *Nat Rev Rheumatol* (2009) 5: 448–56.
74. Weber ANR, Morse MA, Gay NJ. Four N-linked glycosylation sites in human toll-like receptor 2 cooperate to direct efficient biosynthesis and secretion. *J Biol Chem* (2004) 279: 34589–94.
75. Botos I, Segal DM, Davies DR. The structural biology of toll-like receptors. *Structure* (2011) 19: 447–59.
76. Achek A, Yesudhas D, Choi S. Toll-like receptors: promising therapeutic targets for inflammatory diseases. *Arch Pharm Res* (2016) 39: 1032–49.
77. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* (2004) 16: 3–9.
78. Zhang CY, Hu L, Cai RL, Peng CY, Yuan J. Toll-like Receptor 4/Nuclear Factor- κ B Signaling in Synovial Tissue Is Involved in the Anti-inflammatory Effect of Moxibustion in Rats with Rheumatoid Arthritis. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2018 Nov 25;43(11):687-91.
79. Song Y, Ichinose T, Morita K, Yoshida Y. The toll like receptor 4-myeloid differentiation factor 88 pathway is essential for particulate matter-induced activation of CD4-positive cells. *J Appl Toxicol*. 2019 Feb;39(2):354-364.
80. Ahmed-Hassan H, Abdul-Cader MS, Sabry MA, Hamza E, Abdul-Careem MF. Toll-like receptor (TLR)4 signalling induces myeloid differentiation primary response gene (MYD) 88 independent pathway in avian species leading to type I interferon production and antiviral response. *Virus Res*. 2018 Sep 2;256:107-116.
81. Nighot M, Rawat M, Al-Sadi R, Castillo EF, Nighot P, Ma TY. Lipopolysaccharide-Induced Increase in Intestinal Permeability Is Mediated by TAK-1 Activation of IKK and MLCK/MYLK Gene. *Am J Pathol*. 2019 Apr;189(4):797-812.

82. Toshchakov VU, Basu S, Fenton MJ, Vogel SN. Differential involvement of BB loops of toll-IL-1 resistance (TIR) domain-containing adapter proteins in TLR4-versus TLR2-mediated signal transduction. *Journal of immunology*. 2005;175: 494–500.
83. Ahmad R, Sylvester J, Zafarullah M. MyD88, IRAK1 and TRAF6 knockdown in human chondrocytes inhibits interleukin-1-induced matrix metalloproteinase-13 gene expression and promoter activity by impairing MAP kinase activation. *Cell Signal*. 2007;19: 2549–2557.
84. Fekonja O, Avbelj M, Jerala R. Suppression of TLR signaling by targeting TIR domain-containing proteins. *Curr Protein Pept Sci*. 2012;13: 776–788.
85. Lin Z, Lu J, Zhou W, Shen Y. Structural insights into TIR domain specificity of the bridging adaptor Mal in TLR4 signaling. *PLoS One*. 2012;7:e34202.
86. Schnare M, et al. Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. *Nature immunology*. 2001;2: 947–950.
87. Sacre SM, et al. The Toll-like receptor adaptor proteins MyD88 and Mal/TIRAP contribute to the inflammatory and destructive processes in a human model of rheumatoid arthritis. *Am J Pathol*. 2007;170:518–525.
88. Jensen OK, Andersen MH, Østgård RD, Andersen NT, Rolving N. Probiotics for chronic low back pain with type 1 Modic changes: a randomized double-blind, placebo-controlled trial with 1-year follow-up using *Lactobacillus Rhamnosis GG*. *Eur Spine J*. 2019 Jul 15.
89. Mok FP, Samartzis D, Karppinen J, Fong DY, Luk KD, Cheung KM. Modic changes of the lumbar spine: prevalence, risk factors, and association with disc degeneration and low back pain in a large-scale population-based cohort. *Spine J*. 2016 Jan 1;16(1):32-41.
90. Maher C, Underwood M, Buchbinder R. Non-specific low back pain. *Lancet*. 2017 Feb 18;389(10070):736-747.
91. Chen Y, Bao J, Yan Q, Wu C, Yang H, Zou J. Distribution of Modic changes in patients with low back pain and its related factors. *Eur J Med Res*. 2019 Oct 9;24(1):34.

92. Li N, Whitaker C, Xu Z, Heggeness M, Yang SY. Therapeutic effects of naringin on degenerative human nucleus pulposus cells for discogenic low back pain. *Spine J.* 2016 Oct;16(10):1231-1237.
93. Ahmed-Yahia S, Decousser JW, Flouzat-Lachaniette CH, Dervin G, Roubineau F, Audureau E, et al. Is the discopathy associated with Modic changes an infectious process? Results from a prospective monocenter study. *PLoS One.* 2019 Aug 15;14(8):e0221030.
94. Zhang L, Chen Q, Wang H, Yang J, Sheng S. Andrographolide mitigates IL-1 β -induced human nucleus pulposus cells degeneration through the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2018 Dec;18(6):5427-5436.
95. Akyol S, Eraslan BS, Etyemez H, Tanriverdi T, Hanci M. Catabolic cytokine expressions in patients with degenerative disc disease. *Turk Neurosurg.* 2010 Oct;20(4):492-9.
96. Krock E, Rosenzweig DH, Currie JB, Bisson DG, Ouellet JA, Haglund L. Toll-like Receptor Activation Induces Degeneration of Human Intervertebral Discs. *Sci Rep.* 2017 Dec 7;7(1):17184.
97. Shah BS, Burt KG, Jacobsen T, Fernandes TD, Alipui DO, Weber KT, et al. High mobility group box-1 induces pro-inflammatory signaling in human nucleus pulposus cells via toll-like receptor 4-dependent pathway. *J Orthop Res.* 2019 Jan;37(1):220-231.
98. Li Z, Wang X, Pan H, Yang H, Li X, Zhang K, et al. Resistin promotes CCL4 expression through toll-like receptor-4 and activation of the p38-MAPK and NF- κ B signaling pathways: implications for intervertebral disc degeneration. *Osteoarthritis Cartilage.* 2017 Feb;25(2):341-350.
99. Fang F, Jiang D. IL-1 β /HMGB1 signalling promotes the inflammatory cytokines release via TLR signalling in human intervertebral disc cells. *Biosci Rep.* 2016 Sep 16;36(5).
100. Krock E, Currie JB, Weber MH, Ouellet JA, Stone LS, Rosenzweig DH, et al. Nerve Growth Factor Is Regulated by Toll-Like Receptor 2 in Human Intervertebral Discs. *J Biol Chem.* 2016 Feb 12;291(7):3541-51.

101. Krock E, Millecamps M, Currie JB, Stone LS, Haglund L. Low back pain and disc degeneration are decreased following chronic toll-like receptor 4 inhibition in a mouse model. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018 Sep;26(9):1236-1246.
102. Krock E, Rosenzweig DH, Haglund L. The Inflammatory Milieu of the Degenerate Disc: Is Mesenchymal Stem Cell-based Therapy for Intervertebral Disc Repair a Feasible Approach? *Curr Stem Cell Res Ther*. 2015;10(4):317-28.
103. Cao W, Du Y, Gao L, Che N, Zhang Q, Luo J, et al. Lipopolysaccharide/Toll-like receptor 4 signaling pathway involved Qingdu decoction treating severe liver injury merging with endotoxemia. *J Tradit Chin Med*. 2017 Jun;37(3):371-377.
104. Akieda-Asai S, Ma H, Date Y. Palmitic acid induces guanylin gene expression through the toll-like receptor 4/nuclear factor κ B pathway in rat macrophages. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019 Sep 25.
105. Dai C, Sun L, Yu L, Zhu G, Wu S, Bao W. Effects of porcine MyD88 knockdown on the expression of TLR4 pathway-related genes and proinflammatory cytokines. *Biosci Rep*. 2016 Nov 17;36(6).
106. von Bernuth H, Picard C, Puel A, Casanova JL. Experimental and natural infections in MyD88- and IRAK-4-deficient mice and humans. *Eur J Immunol*. 2012 Dec;42(12):3126-35.
107. Yang H, Tian W, Wang S, Liu X, Wang Z, Hou L, et al. TSG-6 secreted by bone marrow mesenchymal stem cells attenuates intervertebral disc degeneration by inhibiting the TLR2/NF- κ B signaling pathway. *Lab Invest*. 2018 Jun;98(6):755-772.
108. Ge J, Chen L, Yang Y, Lu X, Xiang Z. Sparstolonin B prevents lumbar intervertebral disc degeneration through toll like receptor 4, NADPH oxidase activation and the protein kinase B signaling pathway. *Mol Med Rep*. 2018 Jan;17(1):1347-1353.
109. Qin C, Lv Y, Zhao H, Yang B, Zhang P. MicroRNA-149 Suppresses Inflammation in Nucleus Pulposus Cells of Intervertebral Discs by Regulating MyD88. *Mol Med Rep*. 2018 Jan;17(1):1347-1353.
110. Zhongyi S, Sai Z, Chao L, Jiwei T. Effects of nuclear factor kappa B signaling pathway in human intervertebral disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2015 Feb 15;40(4):224-32.

111. Zhang J, Li Z, Chen F, Liu H, Wang H, Li X, et al. TGF- β 1 suppresses CCL3/4 expression through the ERK signaling pathway and inhibits intervertebral disc degeneration and inflammation-related pain in a rat model. *Exp Mol Med*. 2017 Sep 22;49(9):e379.
112. Qin C, Zhang B, Zhang L, Zhang Z, Wang L, Tang L, et al. MyD88-dependent Toll-like receptor 4 signal pathway in intervertebral disc degeneration. *Exp Ther Med*. 2016 Aug;12(2):611-618.
113. Zhang CY, Hu L, Cai RL, Peng CY, Yuan J. Toll-like Receptor 4/Nuclear Factor- κ B Signaling in Synovial Tissue Is Involved in the Anti-inflammatory Effect of Moxibustion in Rats with Rheumatoid Arthritis. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2018 Nov 25;43(11):687-91.
114. Ellman MB, Kim JS, An HS, Chen D, KC R, An J, et al. Toll-like receptor adaptor signaling molecule MyD88 on intervertebral disk homeostasis: in vitro, ex vivo studies. *Gene*. 2012 Sep 1;505(2):283-90.
115. Dishon S, Schumacher-Klinger A, Gilon C, Hoffman A, Nussbaum G. Myristoylation Confers Oral Bioavailability and Improves the Bioactivity of c(MyD 4-4), a Cyclic Peptide Inhibitor of MyD88. *Mol Pharm*. 2019 Apr 1;16(4):1516-1522.
116. Yuan J, Hu L, Song XG, Tang ZL, Zhang CY, Yu S, et al. Influence of Moxibustion on TLR 4-MyD 88-NF-KB Signal Transduction Pathway of Synovial Tissue in Rheumatoid Arthritis Rats. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2015 Jun;40(3):199-204.
117. Zhang Z, Chen N, Liu JB, Wu JB, Zhang J, Zhang Y, et al. Protective effect of resveratrol against acute lung injury induced by lipopolysaccharide via inhibiting the myd88-dependent Toll-like receptor 4 signaling pathway. *Mol Med Rep*. 2014 Jul;10(1):101-6.
118. Liu T, Zang N, Zhou N, Li W, Xie X, Deng Y, et al. Resveratrol inhibits the TRIF-dependent pathway by upregulating sterile alpha and armadillo motif protein, contributing to anti-inflammatory effects after respiratory syncytial virus infection. *J Virol*. 2014 Apr;88(8):4229-36.
119. Quero L, Klawitter M, Schmaus A, Rothley M, Sleeman J, Tiaden AN, et al. Hyaluronic acid fragments enhance the inflammatory and catabolic response in human intervertebral disc cells through modulation of toll-like receptor 2 signalling pathways. *Arthritis Res Ther*. 2013 Aug 22;15(4):R94.

120. Yang H, Gao F, Li X, Wang J, Liu H, Zheng Z. TGF- β 1 antagonizes TNF- α induced up-regulation of matrix metalloproteinase 3 in nucleus pulposus cells: role of the ERK1/2 pathway. *Connect Tissue Res.* 2015 Nov;56(6):461-8.
121. Manniche C, O'Neill S. New insights link low-virulent disc infections to the etiology of severe disc degeneration and Modic changes. *Future Sci OA.* 2019 Mar 18;5(5):FSO389.
122. Vagaska E, Litavcova A, Srotova I, Vlckova E, Kerkovsky M, Jarkovsky J, et al. Do lumbar magnetic resonance imaging changes predict neuropathic pain in patients with chronic non-specific low back pain? *Medicine (Baltimore).* 2019 Apr;98(17):e15377.
123. Splendiani A, Bruno F, Marsecano C, Arrigoni F, Di Cesare E, Barile A, et al. Modic I changes size increase from supine to standing MRI correlates with increase in pain intensity in standing position: uncovering the "biomechanical stress" and "active discopathy" theories in low back pain. *Eur Spine J.* 2019 May;28(5):983-992.
124. Albert HB, Briggs AM, Kent P, Byrhagen A, Hansen C, Kjaergaard K. The prevalence of MRI-defined spinal pathoanatomies and their association with modic changes in individuals seeking care for low back pain. *Eur Spine J.* 2011 Aug;20(8):1355-62.
125. Kjaer P, Korsholm L, Bendix T, Sorensen JS, Leboeuf-Yde C. Modic changes and their associations with clinical findings. *Eur Spine J.* 2006 Sep;15(9):1312-9.
126. Dudli S, Liebenberg E, Magnitsky S, Lu B, Lauricella M, Lotz JC. Modic type 1 change is an autoimmune response that requires a proinflammatory milieu provided by the 'Modic disc'. *Spine J.* 2018 May;18(5):831-844.
127. Fayad F, Lefevre-Colau MM, Rannou F, Quintero N, Nys A, Macé Y, et al. Relation of inflammatory modic changes to intradiscal steroid injection outcome in chronic low back pain. *Eur Spine J.* 2007 Jul;16(7):925-31.
128. Albert HB, Hansen JK, Sogaard H, Kent P. Where do patients with MRI-confirmed single-level radiculopathy experience pain, and what is the clinical interpretability of these pain patterns? A cross-sectional diagnostic accuracy study. *Chiropr Man Therap.* 2019 Oct 7;27:50.

129. Ohtori S, Orita S, Yamauchi K, Eguchi Y, Aoki Y, Nakamura J, et al. Classification of Chronic Back Muscle Degeneration after Spinal Surgery and Its Relationship with Low Back Pain. *Asian Spine J.* 2016 Jun;10(3):516-21.
130. Udby PM, Bendix T, Ohrt-Nissen S, Lassen MR, Sørensen JS, Brorson S, et al. Modic Changes Are Not Associated With Long-term Pain and Disability: A Cohort Study With 13-year Follow-up. *Spine (Phila Pa 1976).* 2019 Sep 1;44(17):1186-1192.
131. Dudli S, Fields AJ, Samartzis D, Karppinen J, Lotz JC. Pathobiology of Modic changes. *Eur Spine J.* 2016 Nov;25(11):3723-3734.
132. Teichtahl AJ, Finnin MA, Wang Y, Wluka AE, Urquhart DM, O'Sullivan R, et al. The natural history of Modic changes in a community-based cohort. *Joint Bone Spine.* 2017 Mar;84(2):197-202.
133. Chen L, Hu X, Zhang J, Battié MC, Lin X, Wang Y. Modic Changes in the Lumbar Spine are Common Aging-related Degenerative Findings that Parallel With Disk Degeneration. *Clin Spine Surg.* 2018 Aug;31(7):312-317.
134. Han C, Wang T, Jiang HQ, Ma JX, Tian P, Zang JC, et al. An Animal Model of Modic Changes by Embedding Autogenous Nucleus Pulposus inside Subchondral Bone of Lumbar Vertebrae. *Sci Rep.* 2016 Oct 7;6: 35102.
135. Zamora T, Palma J, Andia M, Garcia P, Wozniak A, Solar A, et al. Effect of Propionibacterium acnes (PA) injection on intervertebral disc degeneration in a rat model: Does it mimic modic changes? *Orthop Traumatol Surg Res.* 2017 Sep;103(5):795-799.
136. Crockett MT, Kelly BS, van Baarsel S, Kavanagh EC. Modic Type 1 Vertebral Endplate Changes: Injury, Inflammation, or Infection? *AJR Am J Roentgenol.* 2017 Jul;209(1):167-170.
137. Drago L, Romanò CL, Cecchinato R, Villafañe JH, De Vecchi E, Lamartina C, et al. Are MODIC Type 2 disc changes associated with low-grade infections? A pilot study. *J Neurosurg Sci.* 2017 Feb 15.
138. An Y, Li J, Li Y, Shen Y. Characteristics of Modic changes in cervical kyphosis and their association with axial neck pain. *J Pain Res.* 2017 Jul 14;10:1657-1661.

16. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onayı

İÜC Tarih ve Sayı: 07/04/2017-135558



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Uzm.Öğr.Dr.Mehmet Yiğit
Akgün'nün etik kurul kararı A-37

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 21.03.2017 tarihli, 110640 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Mehmet Murat HANCI**'nın danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr. Mehmet Yiğit AKGÜN'nün sorumluluğunda Doç.Dr.Sibel AKYOL'un** yardımcılığında yürütülecek olan "**Dejeneratif Disk Hastalığının oluşumunda MyD88 bağimli yolağın rolü**" başlıklı Uzmanlık Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **04 Nisan 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Gökhan İPEK
Bölüm Başkanı

Doğrulamak için:<http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE84NKP8T>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Fax : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.